

**VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE TENAZITÄT VON VIREN
IN TRINK- UND OBERFLÄCHENWASSER**

Klaus Ottis

1976

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie
Infektions- und Seuchenmedizin
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr

Angefertigt in der Abteilung für Virologie
unter der Leitung von Prof. Dr. H. Mahnel

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE TENAZITÄT
VON VIREN IN TRINK- UND OBERFLÄCHENWASSER

In a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Klaus Ottis

aus

München

München 1976

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität München



Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. H. Mahnel
Korreferent: Prof. Dr. M. Ruf

Tag der Promotion: 27. Februar 1976

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	6
2. SCHRIFTTUM	7
2.1. Allgemeines über die Tenazität von Viren in Wasser	7
2.2. Natürliche Faktoren, welche die Tenazität von Viren in Wasser beeinflussen	9
2.2.1. Physikalische Faktoren	10
2.2.1.1. Temperatur	10
2.2.1.2. Wasserstoffionenkonzentration	11
2.2.1.3. Andere natürliche Faktoren	12
2.2.2. Chemische Faktoren	13
2.2.2.1. Anorganische Wasserbestandteile	13
2.2.2.2. Organische Wasserbestandteile	15
2.2.3. Verweildauer	15
2.2.4. Andere Faktoren	16
2.3. Befunde über das Vorkommen von Viren in Trink- und Oberflächenwasser	22
2.4. Bisherige Kenntnisse zur Haltbarkeit verschiedener Virusarten in Trink- und Oberflächenwasser	30
2.5. Methoden zur Inaktivierung von Viren in Trink- und Oberflächenwasser und ihre Wirksamkeit	42
2.5.1. Desinfektionsverfahren	42
2.5.1.1. Chlor	42

	Seite
2.5.1.2. Ozon	53
2.5.1.3. Jod	58
2.5.1.4. Brom	59
2.5.1.5. Redoxpotential	62
2.5.1.6. Ultraviolette Strahlung	67
2.5.1.7. Gamma-Strahlung	68
2.5.1.8. Silber und Kupfer	69
2.5.2. Fällungs- und Adsorptionsverfahren	72
2.5.2.1. Aluminiumverbindungen	73
2.5.2.2. Eisen-III-Verbindungen	75
2.5.2.3. Wasserenthärtungs- Präzipitation	76
2.5.2.4. Polyelektrolyte	78
2.5.2.5. Kohleabsorption	79
2.5.3. Filtrationsmethoden	80
2.5.3.1. Sandfiltration	80
2.5.3.2. Seitz-Filter	82
2.5.3.3. Kieselgurfilter	83
2.5.4. Wasserspeicherung	83
2.5.5. Hitzebehandlung	84
2.5.6. Kombinierte Verfahren	84
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	86
3.1. Material und Methoden	86
3.1.1. Wasserarten	86
3.1.2. Testviren und Viruszüchtung	90
3.1.3. Virusnachweise	91
3.1.4. Virustitrierung	93
3.1.5. Versuchsanordnung	94
3.2. Versuche und Ergebnisse	97
3.2.1. Einfluß der Temperatur	97
3.2.2. Einfluß der Wasserstoffionen- konzentration	106

	Seite
3.2.3. Einfluß der Wasserhärte	109
3.2.4. Einfluß der Wasserart	112
3.2.5. Einfluß der Chlorung üblicher Stärke	120
4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	122
5. ZUSAMMENFASSUNG	130
6. LITERATURVERZEICHNIS	132

1. EINLEITUNG

Viruserkrankungen, die auf eine Verbreitung von Viren auf dem Wasserwege zurückzuführen sind, wurden bisher nur selten beobachtet. Wenngleich die Verbreitung von Virusinfektionen über das Wasser sehr nahe liegt, kommt ihr doch wegen der starken Verdünnung der kontaminierenden Viren durch das Wasser, der Unfähigkeit der Viren zu einer Vermehrung im Wasser und den vielen virusinaktivierenden Einflüssen nur wenig Bedeutung zu.

Trotzdem ist es notwendig, den Viruskreislauf Mensch/Tier - Abwasser - Flußwasser bzw. Oberflächenwasser - Trinkwasser - Mensch/Tier zu kontrollieren und wo nötig zu unterbrechen. Dies umso mehr, als Trinkwasser das kostbarste Lebensmittel und als solches ein Gütebegriff ist, der sich aus der Nutzung ableitet, und die Gefahr der Wasserkontamination durch Viren mit der zunehmenden Bevölkerungsdichte ständig wächst. Der Verbraucher setzt mit Selbstverständlichkeit voraus, daß Trinkwasser nicht gesundheitsschädlich ist. Die Grundforderung der Abwesenheit von Krankheitserregern im Trinkwasser ist zu erfüllen.

Zunächst ist von grundsätzlicher Bedeutung, zu wissen, wie sich verschiedene virale Krankheitserreger verhalten und wie sie im Wasser überdauern, wenn Nachweisverfahren und Wasseraufbereitungsmethoden sinnvoll angewandt werden sollen.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, einen Beitrag zur Klärung dieser Fragen zu liefern. Dies erscheint gerade in einer Zeit notwendig, in der die Verschmutzung von Oberflächen- und Trinkwässern in dicht besiedelten Gebieten ein bedrohliches Ausmaß angenommen hat und gleichzeitig der Wasserbedarf zunimmt.

2. SCHRIFTTUM

2.1. ALLGEMEINES ZUR TENAZITÄT VON VIREN IN WASSER

Unter der Tenazität von Viren versteht man allgemein ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber äusseren Einflüssen chemischer oder physikalischer Natur (lat.: tenax = zäh). Eine große Tenazität erhöht ihre Überlebenschance in der Aussenwelt.

Die Tenazität von Viren wird durch verschiedene Faktoren bestimmt bzw. beeinflusst. Primär maßgeblich ist der Aufbau eines Virus. Zu den wesentlichen Einflüssen zählt der Status, in dem das Virus vorliegt - zellfrei oder zellgebunden - sowie einige andere Faktoren wie die Temperatur und der pH-Wert des umgebenden Mediums und dessen chemische Zusammensetzung.

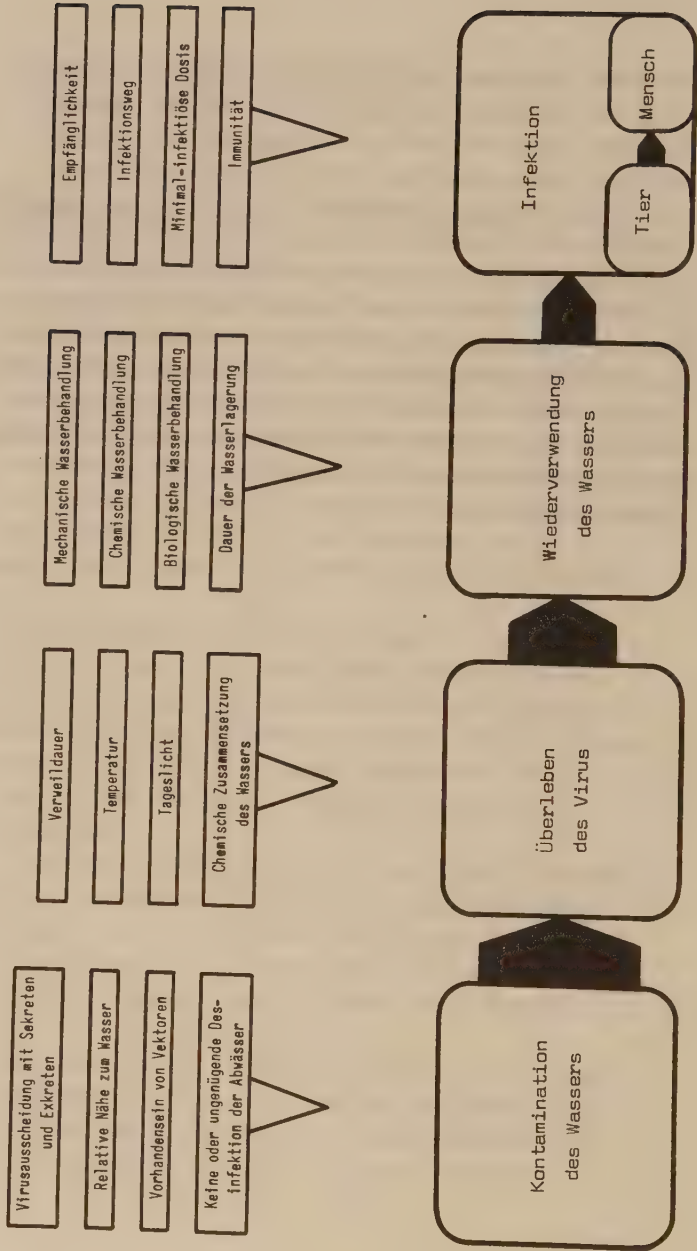
Man kann davon ausgehen, daß Viren im Wasser in der Regel - zumindest Überwiegend - frei, also nicht zellgebunden vorliegen. Bei diesen isolierten Viren wird die Tenazität vom umgebenden Medium stark mitbestimmt; wässrige Lösungen setzen die Stabilität im allgemeinen herab, eiweißreiche Medien erhöhen sie. Zellgebundenes Virus dagegen ist grundsätzlich widerstandsfähiger.

Zellfreies Virus gelangt meist mit natürlichen Ausscheidungen in das Wasser, das dann als Suspensionsflüßigkeit fungiert. Es kann darin durch verschiedene Faktoren stabilisiert werden. Von Bedeutung ist weiterhin, ob das Virus an gewisse Trägerpartikel im Wasser adsorbiert vorliegt.

Viren sind strukturell wie funktionell relativ einfach organisiert. Trotzdem differieren die Viren je nach Aufbau sehr stark in ihrer Widerstandsfähigkeit. Kleine Virusarten, die nur aus Nukleinsäure und einem Proteinmantel bestehen,

verhalten sich wesentlich stabiler als komplexer aufgebaute Viren und vor allem als behüllte Viren. Selbst innerhalb einzelner Virusarten gibt es Unterschiede: MKS-Viren sind labil bei sauren pH-Werten, während die ebenfalls zu den Picornaviren zählenden Enteroviren in einem weiten pH-Bereich stabil bleiben. Unterschiede finden sich sogar zwischen verschiedenen Stämmen der gleichen Virusart, beispielsweise in der Thermostabilität. Zu den Faktoren des Wassers, welche die Tenazität beeinflussen können, zählen die Temperatur, die Wasserstoffionenkonzentration, Sonnen- und Lichteinwirkung, chemische Beschaffenheit, Wasserflora und -fauna, Fließgeschwindigkeit und Wassertiefe, Anzahl und Art von vorhandenen Schwebstoffen sowie der Zeitraum, während dem das Virus diesen Noxen ausgesetzt ist.

Abbildung 1 : Faktoren, die das Überleben von Viren im Wasser beeinflussen



2.2. NATÜRLICHE FAKTOREN, WELCHE DIE TENAZITÄT VON VIREN IN WASSER BEEINFLUSSEN

2.2.1. Physikalische Faktoren

2.2.1.1. Temperatur

Die Trinkwassertemperatur beträgt in der Regel 8-12°C. Oberflächenwasser ist grösseren Schwankungen unterworfen; man kann mit Mittelwerten von 1-4°C im Winter und 15-22°C im Sommer für Seewasser rechnen. Meerwasser besitzt eine durchschnittliche Oberflächentemperatur von 19°C, die mit zunehmender Tiefe langsam absinkt und in 3000m Tiefe 2°C erreicht.

Die Temperaturkonstanz eines Wassers ist abhängig vom Grad der Verdunstung, von der Bewegung des Wassers und seiner Durchmischung. Von den auf die Wasseroberfläche treffenden Sonnenstrahlen wird nur ein geringer Teil der Energie für die Erhöhung der Wassertemperatur verwendet, der weitaus größere Teil wird zur Verdunstung verbraucht. 45% der eingestrahnten Wärme wird innerhalb der ersten zehn Zentimeter absorbiert, und in die Tiefe von einem Meter gelangt nur noch 18% der empfangenen Wärme. Die Wärmeabsorption nimmt zu mit der Zahl der im Wasser suspendierten Teilchen. Tiefere Wasserschichten weisen eine relativ konstante Wassertemperatur auf (Beispiel Long Lake/USA, nach DAUBNER, 1972):

Tabelle 1:

Temperatur °C	Sommer	Winter
Oberfläche	23,3	0,4
3-10m Tiefe	21,3-8,9	2,9-3,4
12-22m Tiefe	8,4-7,8	3,4-4,6

Viren werden mit zunehmender Temperatur unstabiler. Inaktivierungsprozesse an der Nukleinsäure und Veränderungen an der labilen Virusproteinschale führen zu einer Zwei-Komponenten-Kinetik der Hitzeinaktivierung (KOCH, 1962). Verschiedene bivalenten Kationen (Ca^{++} , Mg^{++}) können dabei stabilisierende

oder thermoresistenz-schwächende Einflüsse ausüben. Bekannt ist die Thermostabilisierung bei Entero- und Rhinoviren, während Adenoviren, Herpes- und Schweinepestviren eine erhöhte Thermolabilität in Anwesenheit dieser Kationen zeigen. Calcium- und Magnesiumionen finden sich vor allem in harten Wässern. Aus einer Zusammenstellung von GINOZA (1968) geht hervor, daß sich keine Gesetzmässigkeit aus dem Temperaturverhalten der Viren gegenüber verschiedenen anorganischen Substanzen ziehen läßt, die im Wasser vorkommen. Enteroviren werden durch Magnesiumchlorid stabilisiert, nicht aber durch Magnesiumsulfat, während Myxoviren durch Magnesiumsulfat wärmeresistenter werden. Bakteriophagen T5 werden in Anwesenheit von 0,1m NaCl-Lösung und einer Konzentration von 10^{-5} Mol CaCl_2 schnell wärmeinaktiviert, während die Erhöhung des CaCl_2 -Gehaltes die Inaktivierungsrate reduziert. Nach den Angaben von WALLIS und MELNICK (1962) sind verschiedene Myxoviren (Influenza, Parainfluenza, Mumps), Togaviren (Sindbis) und Papovaviren (Polyoma) in 1-molaren Magnesiumlösungen gegenüber Erwärmung empfindlicher als in destilliertem Wasser. Kubische RNS-Viren werden durch molare Magnesiumlösungen stabilisiert, DNS-Viren mit kubischem Aufbau und helikale RNS-Viren sowie Vaccinia- und Sindbisviren in gleicher Lösung jedoch schneller inaktiviert.

2.2.1.2. Wasserstoffionenkonzentration

In der Natur vorkommende Wasserarten haben im allgemeinen einen pH-Wert, der um 7 liegt, am häufigsten 7,2-7,7. Wasser aus Moorengebieten sowie solche mit viel freier Kohlensäure können pH-Werte von 5-6 erreichen, aufbereitete Wässer bis über 8. Grundwasser besitzt Werte von 6-8, meistens aber 7,0-7,5 (HÖLL 1970). Gegenüber verschiedenen pH-Werten verhalten sich Viren unterschiedlich. Beispielsweise besitzen Enteroviren ein

sehr breites pH-Spektrum, während das MKS-Virus und Rhinoviren durch manche Wässer mit sehr niedrigen pH-Werten (6,5 oder weniger) bereits geschädigt werden. Im allgemeinen liegen die pH-Werte von natürlichen Gewässern in den Grenzen, in denen sich Viren stabil verhalten.

2.2.1.3. Andere natürliche Einflüsse

Sonnenstrahlung

Die Sonnenstrahlung enthält sehr viel ultraviolettes Licht, das auf Viren eine stark inaktivierende Wirkung hat. UV-Licht besitzt eine Wellenlänge zwischen 150 und 3900Å, jedoch wird praktisch alles Licht von einer Wellenlänge unterhalb 2900Å in der Atmosphäre absorbiert (STUART 1966). Auch der biologisch wirksame, langwelligere Anteil zwischen 2800 und 3200Å wird in der Atmosphäre, besonders in staubhaltiger Luft, merklich geschwächt. Alle bisher beschriebenen Virusarten sind empfindlich gegenüber ultraviolettem Licht, das im Wasser jedoch nur an der Oberfläche und in geringer Tiefe seine viruzide Eigenschaft entwickeln kann (BORNEFF 1967, MALHERBE und STRICKLAND-CHOLMLEY 1967). Letztgenannte Autoren liessen vier Tage lang Sonnenlicht je 5,5 Stunden auf Poliovirus 1 einwirken, das sich in 7,6cm tiefen, mit sterilisiertem und filtriertem Abwasser gefüllten Behältern befand. Die mittlere Temperatur betrug 23°C. Dabei war der Virusgehalt am Ende der Versuchszeit in der oberen 2,5cm-Schicht um über fünf Zehnerpotenzen abgefallen, in 7,6cm Tiefe jedoch nur um zwei Zehnerpotenzen.

Der Verlust der Infektiosität durch die UV-Strahlung beruht auf einer Schädigung der Virusnukleinsäure. Eine optimale Virusinaktivierung erfolgt im jeweiligen Bereich der Nukleinsäureabsorption, also meist zwischen 2000 und 3000Å. Nach einer Zusammenstellung von VIDOR (1973) liegen die wirksamen Wellen-

längen fast ausschliesslich zwischen 2200 und 2800Å, nur für das Augesky-Virus werden 3200-4000Å angegeben.

Tageslicht

Die Virusinaktivierung durch Tageslicht in einem Wellenbereich von 3300 bis 4700Å wurde von APPLEBYARD (1967) untersucht. Auch ohne photosensibilisierende Stoffe und in Abwesenheit von direkter Sonnenstrahlung trat eine Virusinaktivierung auf. Die Sensibilität der untersuchten Virusarten nahm in der folgenden Reihenfolge ab: Sindbis - Murray Valley Encephalitis - Influenza - Kaninchenpocken - Polio (Typ 1)-Virus. Letzteres war gegenüber Tageslicht resistent. Semliki-Forest-Virus, das vier Stunden lang bei 23°C dem Tageslicht ausgesetzt wurde, zeigte je nach der vorhandenen Helligkeit einen Virusverlust von 99 - 99,999%. Die in Dunkelheit gehaltenen Kontrollen wiesen keine Verluste auf. Durch Zufügen von Kälberserum und durch anaerobe Bedingungen wurde die Inaktivierungsrate vermindert. Die Natur der stattfindenden photochemischen Prozesse an der sensibilisierten Nukleinsäure konnte nicht geklärt werden. In einer Zusammenstellung von HENNEMANN (1968) wird aufgezeigt, daß sich bestimmte Myxo-, Herpes- und Pockenviren gegenüber nicht-ionisierenden Strahlen sehr empfindlich, MKS-Virus nur wenig empfindlich, Poliomyelitis-Virus sogar resistent verhalten.

2.2.2. Chemische Faktoren

2.2.2.1. Anorganische Wasserbestandteile

Die dominierenden anorganischen Wasserbestandteile sind die Anionen Bicarbonat, Chlorid und Sulfat sowie die Kationen Calcium, Magnesium, Natrium, Kalium. Süßwasser enthält im allgemeinen weniger als 1 Gramm/Liter Salze. Bicarbonate von Calcium und Magnesium bestimmen die sogenannte temporäre Wasserhärte,

während die Sulfate, Chloride und Nitrate dieser Elemente die permanente Härte bilden (DAUBNER, 1972).

Calcium und Magnesium sind in natürlichen Wässern meist als Hydrogencarbonate an Kohlensäure gebunden. Ein geringer Teil liegt auch an Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Kieselsäure und Phosphorsäure gebunden vor. In Deutschland sind etwa 25% der vorkommenden Wässer weich (Gesamthärte unter 5⁰dH) und ca. 20% hart (über 18⁰dH), alle anderen liegen dazwischen. Oberflächengewässer weisen in der Regel eine geringere Härte auf als Grundwässer. In planktonreichen Seen kann eine biogene Entkalkung durch Kohlensäureassimilation von Planktonorganismen auftreten (HÖLL, 1970).

Eine hohe Konzentration von Kationen stabilisiert Polioviren. Nach den Untersuchungen von WALLIS und MELNICK (1962) vermögen bivalente Kationen Enteroviren bei allen Temperaturen zwischen 4⁰C und 50⁰C zu stabilisieren, monovalente Kationen hingegen nur bei bestimmten Temperaturen. In die Untersuchungen einbezogen wurden außer den Kationen Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ und Na⁺ die Virusarten Coxsackie A9, B1 bis B6, ECHO Typen 1 bis 13 und Poliomyelitis Typen 1,2,3. So wurde in molaren Lösungen bei Poliomyelitis kein Titerabfall über eine Stunde bei 50⁰C festgestellt, bei Coxsackie A9 und B4 trat ein Verlust von 90%, bei Coxsackie B5 und ECHO Typ 2 von 0,2% auf, während die Wasserkontrollen alle Titerverluste von wenigstens 99,99% zeigten. GERBA und SCHAIBERGER (1975) stellten bei ihren experimentellen Erhebungen an Bakteriophagen T2 fest, daß sowohl der Virusverlust als auch das Ausmaß der Virusaggregation direkt abhängig war vom Salzgehalt des Wassers. Allerdings ist die Aggregatbildung in natürlichem Meerwasser nicht so ausgeprägt wie in dem verwendeten, künstlich bereiteten Meerwasser. Eine Abnahme der Salzkonzentration führte zu einer Auflösung der Aggregate.

2.2.2.2. Organische Wasserbestandteile

Viren liegen in Trink- und Oberflächenwasser in der Regel zellfrei vor, aber umgeben von qualitativ und quantitativ verschiedenartigen organischen Begleitsubstanzen. Diese können von abgestorbenem Phyto- und Zooplankton wie auch von pflanzlichen und tierischen Ausscheidungs- und Zersetzungsprodukten stammen. Letztere werden in der Regel mit dem Abwasser zugeführt. Organische Wasserbegleitstoffe, häufig eiweißhaltige Beimengungen, wirken als Schutzkolloide für Viren und vermögen deren Tenazität zu erhöhen.

Den verschiedenen Untersuchungen über die Haltbarkeit von Viren in unterschiedlich stark verschmutztem Wasser (vgl. Kap. 2.4.) kann man entnehmen, daß die Haltbarkeit in sehr reinem wie in stark verschmutztem Wasser größer ist als in mäßig verschmutztem Wasser. Sauberes Wasser enthält wenig organische Stoffe, aber auch wenig Mikroflora und -fauna, während sehr schmutziges Wasser - stark mit organischen Stoffen belastet - eine erhöhte Schutzkolloidwirkung zeigt. Bestimmte organische Wasserinhaltsstoffe wie beispielsweise Enzyme (Trypsin und die von *Streptomyces griseus* erzeugte Pronase) können Coxsackieviren A7, A9, B2 teilweise inaktivieren (CLIVER und HERRMANN, 1972; HERRMANN und CLIVER, 1973). Eine erhöhte Wasserbelastung mit organischen Substanzen vermag ausserdem Virusaggregate aufzulösen und so Einfluß auf die Haltbarkeit zu nehmen (GERBA und SCHAI BERGER, 1975).

2.2.3. Verweildauer

Die Verweildauer von Viren in natürlichen Wässern kann sehr unterschiedlich sein. So beträgt die Umwälzzeit, d.h. der Zeitraum, in dem alles in ein System eingeschleustes Wasser wieder ausgelaufen ist und durch neu zugelaufenes Wasser ersetzt wurde,

in Wasserspeichern und in Flüssen im allgemeinen Tage bis Monate. In Seen kann mit einer Verweildauer von über einem Jahr gerechnet werden (ALEXANDER, 1974), da die ständige Durchmischung des zufließenden mit dem vorhandenen Wasservolumen praktisch nicht kontrollierbar ist. Von Bedeutung ist in diesem Zusammenhang das Volumen des zu- bzw. abfließenden Wassers, die Größe bzw. das Volumen des Wasserspeichers oder Sees und die Lage des Zuflusses in Relation zum Abfluß. Seen mit großer Wassertiefe und wasserschwachen Zuläufen können lange, schnellfließende Flüße sehr kurze Umwälzzeiten erbringen.

Die Verweildauer eines viruskontaminierten Wassers muß in Zusammenhang mit den auftretenden Temperaturen und Lichteinflüssen betrachtet werden. Eine Inaktivierung der Viren im Wasser erfolgt deshalb als Reaktion I. oder II. Ordnung in Abhängigkeit von der Zahl der einwirkenden Noxen, meistens aber in etwa linear zur Verweildauer. Eine Zusammenfassung der Haltbarkeit von Viren in natürlichen Wässern unter Berücksichtigung der Temperatur folgt unter Kapitel 2.4.

2.2.4. Andere Faktoren

Fließgeschwindigkeit

Die Fließgeschwindigkeit hat einen direkten Verdünnungseffekt auf das viruskontaminierte Wasser. Eine hohe Verdünnungsrate bewirkt, daß das Virus seiner schützenden organischen Hüllsubstanzen mehr oder weniger schnell beraubt wird. Schnellfließende Gewässer zeichnen sich ausserdem durch eine bessere Sauerstoffdurchmischung aus. Eine Sedimentation von anorganischen und organischen Partikeln, an welche Viren adsorbiert wurden, kann umso schneller erfolgen, je geringer die Wasserbewegung ist. Andererseits sind Faktoren zu berücksichtigen, die eine unterstützende Wirkung auf die Haltbarkeit haben.

Flüsse und Bäche weisen in der Regel tiefere Wassertemperaturen auf als stehende Gewässer. Das Sonnenlicht kann auf flache, stehende Gewässer länger und intensiver einwirken als auf Fließgewässer. Der Einfluß der mechanischen Bewegung auf die Haltbarkeit von Viren wurde von McLIMANS (1947) untersucht. Verschiedene equine Encephalitisstämme (Toga-Viren) wurden mittels einer speziellen Vorrichtung 240mal pro Minute in wässriger Lösung geschüttelt und der Virusgehalt im Tierversuch ermittelt. Bei einem pH-Wert der Virussuspension von 5,5 konnten Viren nur zwei Stunden lang nachgewiesen werden, wenn sie der Bewegung ausgesetzt waren, während die unbewegten Kontrollen über sechs Stunden viruspositiv blieben. In einem Parallelversuch, in dem die Virussuspension unbewegt mit Sauerstoff versehen wurde, war der Virusnachweis nur eine Stunde lang möglich. Das Verhalten bei einem pH-Wert von 7,5 war allerdings anders. Hier war das Virus auch nach sechs Stunden noch nachweisbar, wenn die Suspension geschüttelt wurde. Der Autor äussert die Ansicht, daß die Rolle des pH-Wertes in Zusammenhang mit der Infektiosität des Virus nach mechanischer Bewegung wahrscheinlich mit dem isoelektrischen Punkt des Virusproteins zusammenhängt. Denn auch Albuminsuspensionen sind anfälliger für Koagulation und Denaturierung, wenn sie nahe dem isoelektrischen Punkt geschüttelt oder erhitzt werden.

Wassertiefe

Hierfür gelten ähnliche Überlegungen. In stehenden Gewässern kommt es mit zunehmender Wassertiefe zu einer geringeren Durchmischung mit Sauerstoff, während die Wirkung des Sonnenlichts rasch abnimmt.

Durchmischung mit Sauerstoff

Die Empfindlichkeit von EMC- und Semliki-Forest-Virus sowie den Bakteriophagen T1, T3, T5 und MS2 gegenüber Sauerstoff in Anwesenheit von Salzlösungen verschiedener Konzentration wurden von TROUWBORST und Mitarbeitern (1974) getestet. Während in

molarer NaCl-Lösung die Phagen T1 und MS2 sowie das Semliki-Forest-Virus schnell inaktiviert wurden, war das EMC-Virus sauerstoffunempfindlich. Erstere wurden dagegen in 0,01 - molarer Lösung nicht inaktiviert. Die Salzkonzentration des Mediums ist ein wichtiger Faktor bei der Sauerstoffinaktivierung; in gesättigten Lösungen erfolgt eine solche nicht. Ausserdem nimmt die Inaktivierungsrate mit der Zeit ab. Beispielsweise verblieb bei dem Bakteriophagen T4 eine resistente Restfraktion von 10^{-4} der ursprünglichen Partikel. McLIMANS (1947) leitete perlenden Sauerstoff sowie Helium durch Virussuspensionen mit verschiedenen equinen Encephalitisstämmen (300ml Gas/Minute). Durch die Sauerstoffbehandlung ging bei einem pH-Wert des Mediums von unter 6 die Virusinfektiosität nach einer Stunde verloren (Nachweis im Tierversuch), bei pH=8 aber war sie nach acht Stunden noch nachweisbar. Für Helium ergab sich bei pH-Werten unter 6 der gleiche Wert wie für Sauerstoff, bei pH=7,5 war das Virus aber nach sieben Stunden nicht mehr nachweisbar. Somit dürfte zumindest ein Teil der Virusinaktivierung auf die Bewegung durch die perlenden Gase zurückzuführen sein.

In diesem Zusammenhang ist auch die mögliche Anwesenheit bestimmter Bakterien im Wasser von Interesse, die H_2O_2 bilden können. KLEBANOFF und BELDING (1974) wiesen nach, daß Lactobazillus acidophilus und Streptokokkus mitis das Polio-myelitis-Virus Typ 1 in Anwesenheit von natürlich vorkommenden Peroxidasen (Lacto- und Myeloperoxidase) abtöten kann. Ähnliche Wirkung haben auch die Halogene Chlor und Jod, besonders bei Vorliegen eines sauren Milieus.

Wasserflora und Wasserfauna

Die Haltbarkeit von Viren in Schalentieren ist temperaturabhängig. METCALF und STILES (1967) infizierten lebende Austern mit Coxsackie B3-Virus und fanden bei Immitation von winterlichen Temperaturen ($1^{\circ}C$) keine Abnahme der Infektiosität innerhalb von 30 Tagen. Als innerhalb der folgenden 40 Tage die

Temperatur langsam auf 10°C erhöht wurde, nahmen die Virusverluste zu. In ähnlichen Versuchen bei sommerlichen Temperaturen (18°C) kam es zu einer schnellen Virusabnahme, die bis zu 10^4 KID_{50} innerhalb einer Woche betrug. Nach Angaben der Autoren ruhen die Tiere, bis im Frühjahr eine Temperatur von 4°C erreicht ist. Dann beginnen sie mit der Nahrungsaufnahme und befreien sich von den Viren durch "Selbstreinigung". LIU und Mitarbeiter (1967) fanden in viruskontaminierten, fließenden Gewässern eine stärkere Virusanreicherung in Venusmuscheln als in stehenden Gewässern. Die Viruskontamination der Tiere blieb aber nur in virusbelasteten Wässern erhalten, nicht in sauberen. So waren nach 96 Stunden keine Poliomyelitis-Viren mehr in den Muscheln nachzuweisen, wenn sie in saubere Gewässer verbracht wurden. Versuche von CLIVER und HERRMANN (1972) zeigten, daß Coxsackieviren A9 teilweise durch proteolytische Bakterien (*Pseudomonas aeruginosa*) zerstört werden. Dieser Vorgang ist innerhalb bakterieller Wachstumsgrenzen nicht temperaturabhängig. Es wurde nachgewiesen, daß die untersuchten Bakterien markierten Kohlenstoff (^{14}C) aus dem Virushüllenprotein aufnahmen, nicht aber markierten Phosphor (^{32}P) aus der Virusnukleinsäure.

Schwebestoffe im Wasser

Partikuläre Wasserbestandteile anorganischer und organischer Natur können als Adsorbentien für Viren dienen. Viren sind selbst Teilchen mit kolloidaler Natur, die bei einem pH-Wert um den Neutralpunkt negativ geladen sind (BITTON, 1975). Eine Adsorption ist grundsätzlich an alle Substanzen möglich, die eine für einen vorliegenden pH-Wert geeignete Ladung haben. CARLSON und Mitarbeiter (1968), MOORI und Mitarbeiter (1975) sowie BITTON und MITCHELL (1974) untersuchten Möglichkeit und Ausmaß, Viren an natürlich im Wasser vorkommende anorganische Kolloide zu adsorbieren. Hierzu wurden die Tonmineralien Illit, Kaolin und Montmorillonit verwendet. Ausserdem wurden noch

verschiedene organische Substanzen getestet. BITTON und MITCHELL (1974) benützten den Bakteriophagen T7 und ermittelten in tonfreiem Wasser nach 16 Tagen einen Virusverlust von fünf Zehnerpotenzen, während bei Zugabe von 100/200 bzw. 750mg Ton zu dem Versuchswasser die Verluste jeweils nur 99,9/99,0 bzw. 90% betrugen. In einer parallelen Versuchsreihe mit Bakterienzellen von E.coli K als Biokolloide, die von Bakteriophagen T7 nicht infiziert werden können, betrug der Titerverlust bei Zimmertemperatur nach 18 Tagen 90%, während ohne Biokolloide ein solcher von 99,998% verzeichnet wurde. Der Grund für dieses Verhalten ist nach Ansicht der Autoren darin zu suchen, daß die Adsorption des Phagen direkt an die Oberfläche der Kolloide erfolgt. So sollen die Mineralien das Virus vor der Inaktivierung schützen, indem sie lytische Enzyme und antiviral wirkende Toxine anderer Mikroflora mit antagonistischer Wirkung adsorbieren.

CARLSON und Mitarbeiter (1968) untersuchten die Adsorption von Polioviren Typ 1 und Bakteriophagen T2; 10mg/l Tonpartikel eliminieren durch Adsorption in zwei Minuten 68%, in fünf Minuten 72% und in 20 Minuten 79% der Viren. Eine Verbesserung der Wirkung durch das Vorhandensein bestimmter Kationen (im Wasser vorkommende Salze wie NaCl, CaCl₂) konnte beobachtet werden. Durch die Zugabe von 1mg/l Albumin wurde die Adsorptionsfähigkeit um 40% verringert, durch 10ml/l Abwasser um 12-14%. Bei einer Änderung der Ionenkonzentration, wie sie in der Natur geschehen kann, wenn Flußwasser in einen See geleitet wird, war eine Desorbierung möglich. Dies wird auch von MOORI und Mitarbeitern (1975) bestätigt. Eine Elution von adsorbierten Viren (Polio Typ 1, Bakteriophagen T2, T7, f2) aus anorganischem und organischem Material war bis zu 99% durch mechanische Bewegung und Resuspendieren in Saline erreichbar. Auch diese Autoren fanden, daß bivalente Kationen die Adsorption bestimmter Phagen unterstützen und dieser Effekt mit

dem pH-Wert variiert. Die Versuche, die auch die Verwendung von Hundefertigfutter als organisches Adsorbens beinhalteten, zeigten auch, daß alles adsorbierte Virus voll infektiös blieb.

2.3. BEFUNDE ÜBER DAS VORKOMMEN VON VIREN IN TRINK- UND OBER- FLÄCHENWASSER

In Trink- und Oberflächenwasser hat man, besonders in den vergangenen Jahren, eine Reihe von Viren nachgewiesen (vgl. Tabelle). Ohne Zweifel häuften sich die positiven Befunde mit der Intensivierung der Suche und der Verbesserung der Anreicherungsverfahren sowie Nachweisverfahren, speziell für sehr geringe Virusmengen.

Auffallend sind ferner zwei Tatsachen: Praktisch wurden nur Viren des Menschen gesucht und gefunden und es handelt sich fast ausschliesslich um kleine und hüllenlose Virusarten. Nur einmal konnte aus Schwimmbadwasser Parainfluenzavirus nachgewiesen werden.

Die bisherigen Literaturbefunde lassen somit nicht allzuvielle Schlüsse zu. Das Fehlen behüllter Virusarten weist aber darauf hin, daß einmal ihre Infektiosität im Wasser instabil sein dürfte und daß vornehmlich mit dem Kot ausgeschiedene und "darmfeste" nackte Viren das Wasser kontaminieren. Ungeklärt bleibt zunächst, inwieweit Trink- und Oberflächenwasser mit anderen Virusarten kontaminiert sind, denen offensichtlich bei den Wasseruntersuchungen kein Interesse galt und deren Erfassung bereits durch die Wahl der Nachweissysteme - nur für menschliche Viren empfängliche Systeme - ausgeschlossen wurde. Eine wichtige epidemiologische Rolle bei der Verbreitung menschlicher Virusinfektionen spielt das Wasser - zumindest auf Grund der Literaturanalyse - derzeit wohl nur bei der Hepatitis A.

Im Zeitraum von 1946 bis 1970 stieg die Anzahl der Fälle von Virushepatitis, für die eine Übertragung des Erregers auf dem Wasserwege wahrscheinlich ist, um über 300% an (CRAUN und McCABE, 1973); dies sind aber nur 0,2 - 0,3% aller Fälle, für welche dieser Übertragungsmodus eine ursächliche Bedeutung hat. Die Autoren machen dafür hauptsächlich "back siphonage", also

das Zurückfließen von kontaminiertem Trinkwasser in das Trinkwasserverteilersystem, verantwortlich. 1971/72 waren in den USA 79% aller Fälle von Virushepatitis, für welche die Übertragung auf dem Wasserwege gesichert ist, auf nicht vorbehandeltes Wasser (Trink-, Grund- und Oberflächenwasser) zurückzuführen. Im Zeitraum von 1961 bis 1970 lag der Anteil bei nur 66,1% (TAYLOR und Mitarbeiter, 1972).

Das Hepatitis A-Virus scheint auch einer leichten Trinkwasserchlorung zu widerstehen. GAVAN und NUTT (1970) bringen Fälle von Hepatitis mit der Aufnahme von Trinkwasser in Zusammenhang, das einen Gehalt von 0,16mg/l freiem Restchlor aufwies.

Neben den Hepatitisviren hat man vornehmlich Picornaviren wiederholt aus Trink- und Oberflächenwasser isoliert; überwiegend waren es Vertreter der Untergruppen Coxsackie A und B sowie verschiedene Typen von anderen Enteroviren, wie ECHO- und Poliomyelitisviren. Das Auftreten von Enteroviren im Trink- und Oberflächenwasser hängt in erster Linie von den Abwasserbelastung der Gewässer ab. Virusarten, die in Trink- und Oberflächenwasser zu finden sind, lassen sich regelmässig aus häuslichen Abwässern sowie den verschiedenen Abschnitten der Abwasseraufbereitungsanlagen einschliesslich des Ablaufes isolieren (WOLF, 1971). PALFI (1972/73) stellte in diesem Zusammenhang fest, daß die aus See- und Flußwasser isolierten Virusarten mit den in der Bevölkerung zirkulierenden übereinstimmten. Er untersuchte auch zu den Wässern gehörende Seeschlammproben und konnte insgesamt fünfmal Viren nachweisen; hauptsächlich fand er ECHO- und REO-Viren. GRINSTEIN und Mitarbeiter (1970) errichteten an einem Fluß, der mit vorbehandeltem Abwasser belastet war, sieben Sammelstellen für Wasserproben. Sie ermittelten an jeder Stelle einen Gehalt von 130-330 Plaque-bildenden-Viruseinheiten pro US Gallone und Minute und schätzten daraus, daß pro Minute 123.000 bis 2,6 Mio. Viruseinheiten vorbeifliessen. Die Differenzierung der Virusarten ergab zu 74% ECHO-Virus Typ 7

und 190 verschiedene Stämme von Poliomyelitisviren, darunter sechs virulente.

Selbst in gechlortem Schwimmbadwasser (0,3-0,5mg/l) wies LIEBSCHER (1970) Coxsackie-Virus 83 nach. Er folgert, daß die Chlordesinfektion in üblicher Stärke von Schwimmbadwasser nicht ausreicht, um Viren zu inaktivieren. Da an der Wasser-Luft-Grenze die Chlorkonzentration auf ein Minimum sinkt, tritt an der Wasseroberfläche eine relative Virusanreicherung auf. Der aktuelle Restchlorgehalt des Wassers ist ferner von der Besucherfrequenz des Schwimmbades abhängig, die eine unterschiedliche Chlorzehrung mit sich bringt (WITT, 1964). WITT konnte nur aus sauberen Schwimmbadwässern, zum Beispiel nach einer Neufüllung, Poliomyelitisviren isolieren. Er vermutet, daß unbelebte Partikel (Schmutz u.ä.) Virus adsorbieren und anschliessend sedimentieren, so daß im Wasser selbst kein Virus nachweisbar ist.

Auch gewisse Adenoviren hat man aus Wässern isoliert und menschliche Erkrankungen damit in Zusammenhang gebracht. 1955 wiesen ORMSBY und AITCHISON ein Virus in einem Schwimmbad nach, das Symptome der Conjunctivitis und Pharyngitis hervorrief. Das Virus wurde damals APC-Virus ("Adenoideal-Pharyngeal-Conjunctival") genannt. In den folgenden Jahren wurden weitere Erkrankungen durch Adenoviren beschrieben (CAZACU und Mitarbeiter, 1967; COIN und Mitarbeiter, 1965; FOY und Mitarbeiter, 1968; BELL und Mitarbeiter, 1955). CALDWELL und Mitarbeiter (1974) stellten fest, daß durch das Anheben des Chlorgehalts auf über 0,3mg/l in einem Schwimmbad keine Adenoviruserkrankungen mehr auftraten, in dem vorher durch den Ausfall der Chlorungsanlage 44 Krankheitsfälle beobachtet wurden.

Tabelle 2: Virusisolierungen aus Trink- und Oberflächenwasser

Wasserart	Virusart	Probenzahl (positive Proben)	Bemerkung	Literaturquelle
Meer	Coxsackie B1/2 B3/4 ECHO Typ 9/11 Polio Typ 1-3		Proben aus 0, 1- 12, 0m Tiefe. Virusgehalt bis 25 KID ₅₀ /l	CROVARI und Mitarbeiter, 1974
Meer	Coxsackie B ECHO REO Polio Andere	(3) (11) (3) (77) (9)	Gesamtzahl der Proben: 310 . Stark abwasser- belastet	METCALF und STILES, 1968
See	ECHO Typ 11 REO	20(1) 46(1)		PALFI, 1972/73
Fluß	Coxsackie A/B ECHO Polio REO	(62) (24) (18)	Gesamtzahl der Proben 697 (130)	FOLIGUET und Mitarbeiter, 1964
Fluß	Coxsackie A/B, ECHO, REO	164(41)		LAMB und Mitarbeiter, 1964
Fluß	Adeno, Cox- sackie, Polio	1307(222)		COIN und Mitarbeiter, 1965
Fluß	Coxsackie B3/5 ECHO Typ 7/8/14 Polio Typ 2/3	210(55)		PRIMAVESI, 1966

Fluß	ECHO Typ 7 Polio Typ 1-3		Nur 5% der Viren wurden typisiert	GRINSTEIN und Mitarbeiter, 1970
Fluß	ECHO Typ 1/6/7 8/14 RED Typ 1	46(6)		PALFI, 1972/73
Fluß	Coxsackie A4/5 A12/B3	12(4)	Untersuchte Wässer- menge: 10 l	ŠIMKOVA und WALLNEROVA, 1973
Fluß	ECHO	9(1)	Untersuchte Wässer- menge 5-25 l	RUBINSTEIN und Mitarbeiter, 1973
Oberflächen- wasser	Coxsackie, ECHO, Polio	417(192)		RUSCHI und SPAZIANTE, 1972
Oberflächen- wasser	Hepatitis A- Antigen	9(2)		HORST, 1974
Quell- und Brunnenwasser	Enteroviren		Wässer waren gechlort	PETRILLI und Mitarbeiter, 1974
Schwimmbad	Adeno Typ 3	300(80)		BELL und Mitarbeiter, 1965
Schwimmbad	Adeno			CAZACU und Mitarbeiter, 1967
Schwimmbad	Coxsackie B1/2 Parainfluenza 1	23(1) ?		McLEAN, 1967
Schwimmbad	Coxsackie B3	(20%)	Wasser war ge- chlort 0,3-0,5mg/l	LIEBSCHER, 1970

Fortsetzung Tabelle 2

Trink- u. Grundwasser	Hepatitis A - Antigen	930	Übersicht USA 1946-1959	CRAUN und McCABE, 1973
Trink-/Grund-Oberflächenwasser	Hepatitis A - Antigen	903	Übersicht USA 1961-1970	TAYLOR und Mitarbeiter, 1972
Trink-/Grund-Oberflächenwasser	Hepatitis A - Antigen	266	Übersicht USA 1971-1972	MERSON und Mitarbeiter, 1974
Quellwasser	Hepatitis Antigen	19		DICKOV, 1968
Schwimmbad	Adeno Typ 3 (Conjunctivitis)	112		ORMSBY und AITCHISON, 1955
Schwimmbad	Adeno Typ 3 (Conjunctivitis)	24	Wasser war nicht gechlort	FOY und Mitarbeiter, 1963
Schwimmbad	Adeno Typ 7 (Conjunctivitis)	44	Chlorungsanlage ausgefallen	CALDWELL und Mitarbeiter, 1974
Schwimmbad	ECHO Typ 9 (aseptische Meningitis)	44		NEWMAN und SMITH, 1965
	Coxsackie B, ECHO Typ 30		50% der Bevölkerung erkrankten	GREEN und Mitarbeiter, 1968

Tabelle 3: Erkrankungen des Menschen mit erwiesener oder vermuteter Virusätiologie

Wasserart	Virusart (klinische Symptome)	Zahl der Er- krankungen	Bemerkung	Literaturquelle
See	Coxsackie B5 (Conjunctivitis)	21		HAWLEY und Mitarbeiter, 1973
See	Hepatitis A - Antigen	14		BRYAN und Mitarbeiter, 1974
Fluß	Hepatitis A - Antigen	13		RENNIE, 1970
Brunnen	Hepatitis A - Antigen	90		NITZKIN und HENRY, 1971
Brunnen	Hepatitis A - Antigen	95		GARIBALDI und Mitarbeiter, 1972
Brunnen	Polio Typ 2 (Enteritis)	mehrere	Zufallsbefund?	MACK und Mitarbeiter, 1972
Brunnen u. Trinkwasser	Hepatitis A - Antigen	706	Mehrere Ausbrüche	HELGL und Mitarbeiter, 1969
Trinkwasser	Polio	16	Übersicht USA 1946-1970	CRAUN und McCABE, 1973
Trinkwasser	Polio	456	8 Ausbrüche.Über- sicht USA/Kanada	MOSLEY, 1967

Fortsetzung Tabelle 3

Trinkwasser	Virale Gastro- enteritis	1879a	142 Ausbrüche, Über- sicht USA 1946-196a	MOSLEY, 1967
Trinkwasser	Hepatitis A - Antigen	99		ZEJDL und Mitarbeiter, 1965
Trinkwasser	Hepatitis A - Antigen	238		HELCL und Mitarbeiter, 1969
Trinkwasser	Hepatitis A - Antigen	42		METHA und ACHARYA, 1969
Trinkwasser	Hepatitis Antigen		9 Ausbrüche	BRITASCHWITSCH und Mitarbeiter, 1967
Trinkwasser	Hepatitis Antigen	5a58	Übersicht welt- weit 1895-1964	MOSLEY, 1967
Trinkwasser	Hepatitis Antigen	28745	New Dehli 1955/6	MOSLEY, 1967
Trinkwasser	Hepatitis Antigen	44		WHATLEY und Mitarbeiter, 1968
Trinkwasser	Hepatitis A - Antigen	375	Wasser gechlort o, 16mg/l Restchlor	GAVAN und NUTT, 1970
Trinkwasser	Hepatitis A - Antigen	90		MORSE und Mitarbeiter, 1972

2.4. BISHERIGE KENNTNISSE ZUR HALTBARKEIT VERSCHIEDENER VIRUS- ARTEN IN TRINK- UND OBERFLÄCHENWASSER

Über die Haltbarkeit der Viren bzw. die Stabilität ihrer Infektiosität in Trink- und Oberflächenwasser liegen zahlreiche Untersuchungen vor, doch betreffen sie - vom Newcastle Disease Virus abgesehen - ausschliesslich kleine, unbehüllte Virusarten, Überwiegend wiederum Enteroviren des Menschen. Auch Ergebnisse an destilliertem und Meerwasser sind bekannt. Einschlägige Versuche mit tierischen Virusarten und mit behüllten Viren wurden unseres Wissens bisher nicht gemacht.

Vergleiche unter den einzelnen Ergebnissen lassen sich jedoch keine ziehen, da die Versuchsbedingungen immer differierten und verschiedene Faktoren, die einen Einfluß auf Viren im Wasser haben (vgl. Kap. 2.2.), naturgemäß starke Variationsbreiten bedingen. Dennoch sind grobe Einteilungen möglich.

Eine besonders wichtige Rolle für die Inaktivierung von Viren in natürlichen Wässern spielt die Temperatur; dies wird von praktisch allen Autoren bestätigt. Die Temperaturbereiche, in welchen der größte Teil der bisherigen Arbeiten durchgeführt wurde, sind $4-10^{\circ}\text{C}$ und $18-25^{\circ}\text{C}$. Der Ausgangsvirusgehalt betrug in den meisten Fällen $10^3 - 10^5$ pro Milliliter. Nach den vorliegenden Ergebnissen lassen sich ausserdem die verwendeten Wasserarten in der folgenden Weise unterteilen:

- a) Brunnen- bzw. Trinkwasser
- b) Fluß- und Seewasser
- c) Meerwasser

Hinzu kommen die Versuche mit destilliertem Wasser, die eine gewisse Sonderstellung einnehmen.

Wenngleich die Haltbarkeit der untersuchten Entero- und Coxsackieviren in den einzelnen Arbeiten schwankt, so ist doch unter Berücksichtigung von Zeitintervall und Temperatur eine vereinfachte, zusammenfassende Aussage möglich: Der Virusnachweis gelang bei $4-10^{\circ}\text{C}$ in der Regel 60-180 Tage, bei $18-25^{\circ}\text{C}$ 40-150 Tage; für Meerwasser finden sich kürzere, für destilliertes Wasser jeweils längere Inaktivierungszeiten.

Von wesentlicher Bedeutung bei der Beurteilung der bisher vorliegenden Werte ist das System, in dem der Virusnachweis jeweils geführt wurde. Früher erfolgte er über den Tierversuch, während in jüngeren Arbeiten ausschliesslich die Zellkulturtechnik herangezogen wurde. In der optimalen Zellkultur bewirkt ein infektiöses Viruspartikel einen sichtbaren zytopathischen Effekt, während im Versuchstier oft eine Vielzahl von Viren, die "Minimal-Infektiöse-Dosis (MID)", zur Infektion notwendig sind. Die MID wiederum ist abhängig vom Infektionsweg und der Virusspezies. Aus einer Zusammenstellung von PLOTKIN und KATZ (1967) geht hervor, daß die MID (ausgedrückt in der mittleren kulturinfektiösen Dosis KID_{50}) für Parainfluenza 2 beim Menschen bei über 2000 Viruseinheiten für die respiratorische Infektion liegt; beim gleichen Übertragungsweg gilt für das Rhinovirus nur eine KID_{50} . Für die Übertragung des MKS-Virus beim Rind über die Zunge beträgt die MID ca. 1 KID_{50} , für das B-Virus des Affen 250 KID_{50} bei respiratorischer Aufnahme.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen sich auch deshalb kaum vergleichen, weil Unterschiede im Ausgangsvirusgehalt bestehen. Für die Inaktivierung ist zwar diese nicht alleine entscheidend, weil die Neigung der Inaktivierungskurve die gleiche bleibt; der Zeitraum, in dem eine Inaktivierung bestimmten Grades stattfindet, ist jedoch von der Anfangskonzentration abhängig. Schliesslich läßt sich auch die Überlebensdauer der Kulturinfektiosität eines Virus nicht mit der Erhaltung der Pathogenität unter natürlichen Bedingungen identifizieren. So gelang es nicht, mit in Rheinwasser suspendiertem EMC-Virus nach 168 Stunden und mit Theilervirus nach 264 Stunden bei Mäusen Symptome einer Krankheit hervorzurufen (v. WASIELEWSKI und Mitarbeiter, 1961). Ähnlich kurze Zeiten fand auch SCHENK (1955), der mit Newcastle Disease Virus nach 25 Tagen keine Infektion mehr auslösen konnte. Das Virus war in Trinkwasser bei 17°C und völliger Dunkelheit gelagert

worden. Bei Aufbewahrung am Licht war das Virus bereits am 20. Tag im Tierversuch für Hühnerembryonen nicht mehr infektiös. Von verschiedenen Autoren wurde in diesem Zusammenhang auch die Frage untersucht, ob und in welchem Umfang Algen, Protozoen und Plankton eine Virusvermehrung ermöglichen bzw. einen Einfluß auf die Haltbarkeit besitzen. Nach MALHERBE und STRICKLAND-CHOLMLEY (1967) findet in Algen keine Virusvermehrung statt, aber auch keine signifikante Virusreduzierung. Verschiedentlich ermittelte Virusverluste beruhten mit großer Wahrscheinlichkeit auf dem Einfluß von Sonnenlicht an der Wasseroberfläche.

VECKENSTEDT (1956) untersuchte die Haltbarkeit von MKS-Virus im Plankton von Seewasser und konnte das Virus bei 4°C zwanzig Tage lang nachweisen. Gleiches, aber plankton-freies Seewasser blieb 12 Tage, filtrierte Seewasser 5 Tage lang infektiös. Die verlängerte Haltbarkeit des Virus in plankton-reichem Wasser beruht nach Ansicht des Autors auf einer Virusanreicherung im Plankton, nicht aber auf einer Virusvermehrung. Der Mechanismus des Vorgangs ist ungeklärt, eine Oberflächenreaktion im Sinne einer Adsorption ist aber wahrscheinlich. Plankton ist ausserdem in der Lage, Virus zu konservieren, vorausgesetzt, daß sowohl genügend freies Virus als auch genügend Plankton vorliegt.

Auch Amöben dürften verschiedene Virusarten im Wasser nicht beeinflussen (KNORR und KLÜHR, 1956). Das Influenza A-Virus vermehrte sich nicht in Amöben des Stammes *Nägleria*; in einer Amöbenaufschwemmung verhielten sich die Protozoen auch gegenüber E.coli-Phagen zwölf Stunden lang indifferent. Es trat aber eine signifikante Abnahme des Virusgehalts bei Influenza A- und Kuhpockenvirus ein. Nach Ansicht der Autoren sind dafür Zerfallsprodukte der Amöben (Plasmastoffe) verantwortlich zu machen. Betrachtet man die verschiedenen Versuchsergebnisse im Zusammenhang mit der Verschmutzung des verwendeten Versuchswassers, so

ergibt sich ein relativ einheitliches Bild. Sehr reines Wasser verlängert die Haltbarkeit der Viren erheblich (CLARKE und CHANG, 1959; HERRMANN und Mitarbeiter, 1974; MAGNUSSON und Mitarbeiter, 1967; METCALF und STILES, 1967; MITCHELL und JANNASCH, 1969; v.WASIELEWSKI und Mitarbeiter, 1961). Ihre Überlebensrate ist in nicht-behandeltem, reinem Wasser größer als in mäßig-verschmutztem Wasser. In sehr stark verunreinigtem Wasser steigt sie dagegen wieder an (CLARKE und CHANG, 1959). Ganz offensichtlich wird in relativ sauberen Wässern und solchen, die weniger Mikroflora und -fauna als normale Oberflächengewässer enthalten, die Überlebenszeit von Viren stark verlängert. Deshalb ist eine Lagerung von Wasser alleine kein geeignetes Mittel, um Viren zu eliminieren. HERRMANN und Mitarbeiter (1974) untersuchten die Haltbarkeit von Coxsackie- und Poliomyelitistviren in 1 Meter Seetiefe. Eine 99%ige Inaktivierung trat nach 4-14 Tagen ein. Wurde das Seewasser steril filtriert, so war am 21. Tag eine Inaktivierung von nur rund 90% zu verzeichnen. Nach CLARKE und Mitarbeiter (1956) hatten Coxsackieviren in stark verschmutztem Flußwasser bei 20°C eine Überlebensdauer von 72 Tagen. In Flußwasser mit mittlerer Verschmutzung betrug sie nur 16 Tage, in sauberem Flußwasser war bereits am nächsten Tag kein Virus mehr nachweisbar. Für das gleiche Virus in natürlichem Flußwasser betrug bei 20°C die Überlebensdauer 28 Tage, im selben, aber autoklavierten Flußwasser aber 150 Tage.

Ähnliche, von früheren Erkenntnissen aber zum Teil abweichende Ergebnisse erhielten v.WASIELEWSKI und Mitarbeiter (1961). Sie stellten insofern einen Zusammenhang zwischen der Inaktivierungsquote und dem Verschmutzungsgrad des Wassers (gemessen an der Sauerstoffzehrung des Wassers, dem Verbrauch an Kaliumpermanganat und der bakteriellen Verunreinigung) fest, als bei zunehmender Verschmutzung eine schnellere Abnahme der Infektiosität auftrat.

Meerwasser scheint aufgrund besonderer Eigenschaften von sich

aus viruzid zu wirken. GERBA und SCHAIBERGER (1975) ermittelten beim E.coli-Phagen T2 in künstlichem Meerwasser bei 4°C eine Abhängigkeit seiner Stabilität vom Salzgehalt. Nach sechs Tagen waren bei einem Salzgehalt von 3,5% ca. 50% weniger Phagen nachweisbar als in Wasser mit 0,035% Salzgehalt. Nach MAGNUSSON und Mitarbeitern (1967) ist dagegen die virusinaktivierende Eigenschaft des Meerwassers durch seine Salzkonzentration sowie anhand eventuell stattfindender photodynamischer Reaktionen und Oxydationsprozesse allein nicht zu erklären. Nach MATOSSIAN und GARABEDIAN (1967) tritt eine 99,9%ige Inaktivierung von Polio-myelitisviren in Meerwasser (pH $\bar{7}$ 8,1) nach 6-9 Tagen ein. In abgekochtem und dann lange bei Zimmertemperatur gelagertem Meerwasser ging dagegen ein Teil der viruziden Eigenschaften verloren. Nach Ansicht der Autoren sind dafür hitzeempfindliche Substanzen marinen Ursprungs maßgeblich, nicht aber Mikroorganismen, denn die Überlebenszeit der Viren war in natürlichem wie in steril - filtriertem Meerwasser gleich lang. Versuchsergebnisse von MAGNUSSON und Mitarbeitern (1967) widersprechen dieser Ansicht. Diese Autoren konnten ein Meeresbakterium gewinnen, das in erhitztem und steril-filtriertem Meerwasser die viruziden Effekte wiederherstellte. GUNDERSEN und Mitarbeiter (1967) erforschten die Morphologie und Charakteristik dieses Bakteriums und nannten es "Vibrio marinus". Ultraschallbehandlung vermochte allerdings diese "VIC" (Virus-inactivating-capacity) nicht zu zerstören, wenn gleich dadurch die meisten Bakterien vernichtet wurden. Noch nicht geklärt ist in diesem Zusammenhang, ob eine intakte Bakterienzelle, bakterielle Zerfallsprodukte oder Stoffwechselsubstanzen die Inaktivierung des Virus fördern.

Auch MITCHELL und JANNASCH (1969) beobachteten, daß die Haltbarkeit von Bakteriophagen in natürlichem Meerwasser erheblich geringer war als in filtriertem und zudem autoklaviertem oder UV-sterilisiertem Meerwasser. Fein suspendiertem, organischem Material wird die Fähigkeit zugesprochen, Virus (eventuell

durch Adsorption) zu schützen; solches Material kann durch Erhitzen oder UV-Bestrahlung entstehen, wenn Mikroben mit Zellstruktur abgetötet werden. WON und ROSS (1973) konnten aber nicht feststellen, daß durch die Zugabe von organischen Stoffen (Pepton, Enzyme, Aminosäuren, Fäkalien) zu Meerwasser die Haltbarkeit von ECHO-Virus signifikant verändert wird. GERBA und SCHAIßBERGER (1975) untersuchten die Haltbarkeit und den Einfluß der Aggregatbildung am Bakteriophagen T2 im Meerwasser. Sie verglichen die Inaktivierungszeiten in natürlichem und filtriertem Wasser (Millipore-Filter, Porengröße 0,22µm bei einer Phagengröße von 0,19µm) und stellten nach sechs Tagen im filtrierten Wasser einen um rund drei Zehnerpotenzen niedrigeren Virusgehalt fest als in natürlichem Wasser. Der Salzgehalt des Meerwassers betrug 3,5%. In natürlichem Meerwasser war die Aggregatbildung weniger ausgeprägt als in künstlichem Wasser.

Verschiedene Autoren ermittelten in ihren Untersuchungen teilweise erhebliche Unterschiede in der Stabilität zwischen einzelnen Enterovirus-Stämmen (POYNTER, 1968; WELKE, 1973). WELKE benutzte ausschliesslich autoklaviertes Flußwasser; die vier geprüften ECHO-Virus-Stämme differierten signifikant in ihrer Haltbarkeit. Nach anfänglichem Abfall des Virusgehalts war ein konstanter, waagrechter Verlauf der Inaktivierungskurve über längere Zeit zu verzeichnen. Die Differenzen führt WELKE auf einen unterschiedlichen Anteil thermosensibler Viruspartikel in der Viruspopulation zurück.

Tabelle 4: Haltbarkeit verschiedener Virustypen in Trink- und Oberflächenwasser

Wasserart	Virusart	Virusnachweis (Tage)	Temperatur °C	Virusanfangsgehalt	Bemerkung	Autoren
Meer	ECHO Typ 6	140	5	$10^3 - 10^5$ KID ₅₀ /o, 1ml		METCALF und STILES, 1967
	ECHO Typ 6	20	37			
	Polio Typ 1	140	5			
	Polio Typ 1	30	37			
Meer	ECHO Typ 6	98	3-5		O, R O, R	WON und ROSS, 1973
	ECHO Typ 6	8	22			
Meer Meer (6)	E.coli - Phage Φ x174	6 6		$10^{12,5}$ /ml	O C	MITCHELL und JANNASCH, 1969
Meer (10) Meer A.O.	Polio Typ 1 Polio Typ 1 Polio Typ 1	40 40 40	22 22 22	$10^{5,5}$ KID ₅₀ /ml	K N T	LIU und Mitarbeiter, 1967
Meer TW Meer TW Meer TW	Coxsackie B1 Coxsackie B1 ECHO Typ 5 ECHO Typ 5 Polio Typ 1 Polio Typ 1	56 224 35 56 84 280	18-20 18-20 18-20 18-20 18-20 18-20			RUSCHI und BENDINELLI, 1966
TW	Adeno Typ 5	68	18-22			BAGDASARIAN und ABIJEWA, 1970
TW	Polio Typ 3	170	5-6	2500 Φ BE/ml	F	BORNEFF, 1967

Erläuterungen siehe Seite 41

TW = Trinkwasser

Fortsetzung Tabelle 4:

TW	ND-Virus	25	17	A	SCHENK, 1955
TW	Polio Typ 2 Polio Typ 3	154 147	18-20 18-20		RUSCHI und BENDINELLI, 1966
TW	Polio Typ 3	170	5-6	F	BORNEFF, 1967
(U)	E.coli- Phagen T1/T2	300			BAGDASAR'JAN und ABIJEWA, 1970
Fluß	Polio	>188	4	S	RHODES und Mitarbeiter, 1950
Fluß(9)	Coxsackie A2	15-28	8-20		CLARKE und Mitarbeiter, 1956
A.d. A.d. Fluß(6) Fluß(6) Fluß(7) Fluß(7) Fluß(8)	Coxsackie A2	> 272 100 150 102 14 5 47	8-10 20-23 8-10 20-23 8-10 20-23 20-23	N N N N N N N	CLARKE und Cheng, 1959
Fluß	EMC Theiler	168h 264h		A A	V.WASIELEWSKI und Mitarbeiter, 1961
Fluß	Polio Typ 3 Polio Typ 3	> 63 < 15	5-6 15-16		POYNTER, 1968

Erläuterungen siehe Seite 41

h = Stunden

TW = Trinkwasser

Fortsetzung Tabelle 4:

Fluß	ECHO Typ 12 ECHO Typ 12 Coxsackie A9 Coxsackie A9 Polio Typ 1 Polio Typ 1	33 5 10 <8 27 17	4 28 4 28 4 28		N N N N N N N	CLARKE und Mitarbeiter, 1964
Fluß (4) Fluß (4) Fluß (5) Fluß (5)	Polio Typ 1	130 30 42 23	5 37 0-1,5 14,5-17	$\left\{ \begin{array}{l} 10,3,5 \text{ KID } 50/\text{ml} \\ 10,6,4 \text{ KID } 50/\text{pr.} \\ 10,6,8 \text{ KID } 50/\text{pr.} \end{array} \right.$	J J	METCALF und STILES, 1967
Fluß (4) Fluß (4) Fluß (5) Fluß (5)	ECHO Typ 6	130 30 50 23	5 37 0-1,5 14,5-17	$\left\{ \begin{array}{l} 10,6,0 \text{ KID } 50/\text{ml} \\ 10,9,5 \text{ KID } 50/\text{pr.} \\ 10,6,8 \text{ KID } 50/\text{pr.} \end{array} \right.$	L L	METCALF und STILES, 1967
Fluß (4) Fluß (5) Fluß (5)	Coxsackie B3	64 55 32	24 0-1,5 14,5-17	$\left\{ \begin{array}{l} 5,5 \text{ KID } 50/\text{ml} \\ 10,8,5 \text{ KID } 50/\text{pr.} \\ 10,8,9 \text{ KID } 50/\text{pr.} \end{array} \right.$		METCALF und STILES, 1967
Fluß Fluß	Coxsackie B2 Coxsackie B5	ca. 20 >100	5-6 5-6	900PBE/ml 800PBE/ml		POYNTER, 1968
Fluß	Coxsackie A4	154 45 7	4-8 20-22 20-22	0,32-32LD 50/ml 32LD 50/ml 0,32LD 50/ml		ŠIMKOVA und WALLNEROVA, 1973

Erläuterungen siehe Seite 41
Pr = Probe

Fortsetzung Tabelle 4:

Fluß(6)	ECHO Typ 6 ECHO Typ 6 ECHO Typ 11 ECHO Typ 11 ECHO Typ 30 ECHO Typ 30 ECHO Typ 33 ECHO Typ 33	560 112 560 322 560 70 560 315	8 20 8 20 8 20 8 20	$10^{5,0}$ bis $10^{7,0}$ KID $_{50}$ /ml	G G P P L L M M	WELKE, 1973
Fluß(1) Fluß(1) Fluß(2) Fluß(2) See (3) See (3)	Coxsackie B3	7 3 7 1 7 3	4 23 4 23 4 23	$10^{3,0}$ KID $_{50}$ /ml	C F H F H F	PRIER und RILEY, 1967
Fluß(1) Fluß(1) Fluß(2) Fluß(2) See (3) See (3)	ECHO Typ 6	7 3 7 3 5 5	4 23 4 23 4 23	$10^{3,0}$ KID $_{50}$ /ml	C F D F F F	PRIER und RILEY, 1967
Fluß(1) Fluß(1) Fluß(2) Fluß(2) See (3) See (3)	Polio Typ 1	7 3 7 3 7 3	4 23 4 23 4 23	$10^{3,0}$ KID $_{50}$ /ml	C F C F H F	PRIER und RILEY, 1967

Erläuterungen siehe Seite 41

Fortsetzung Tabelle 4:

See See	Coxsackie A9 Polio Typ 1	21 21		10^6 PBE/ml	E O	HERRMANN und Mitarbeiter, 1974
Brunnen Brunnen	Hepatitis Hepatitis	60 28	(V) 20-22			NEEFE und STOKES, 1945
Brunnen MOW OFW	EMC-Virus }	39 41 46			B B B	KRAUS und WEBER, 1958
Brunnen	Hepatitis - B Antigen	16		10^3 /ml	B	IOLI und ABENA, 1973
A.d. A.d.	Coxsackie A5 Coxsackie A5	280 210	8-10 20-30			GILCREAS und KELLY, 1955
A.d.	ND-Virus	14	17		A, Q	SCHENK, 1955
A.d.	Coxsackie B5 Coxsackie B5 Polio Typ 1 Polio Typ 1	180 28 365 28	4 20-22 4 20-22			PRIMAVESI, 1966
A.d.	Polio Typ 3	180	5-6	2500 PBE/ml	C	BORNEFF, 1967
A.d.	Hepatitis - B Antigen	16		10^3 /ml	B	IOLI und ABENA, 1973

Erläuterungen siehe Seite 41
MOW = Moorwasser
OFW = Oberflächenwasser

Erläuterungen zu Tabelle 4 Seite 36-40:

KID	Kulturinfectiöse Einheit
PBE	Plaue-bildende Einheit
A	Virusnachweis im Tierversuch
B	Keine Temperaturangabe
C	Titerabfall 90%
D	Titerabfall unter 90%
E	Titerabfall über 90%
F	Titerabfall 99,9%
G	Titerabfall über 99%
H	Titerabfall 90-99%
J	Titerabfall 99-99,9%
K	Titerabfall über 99,99%
L	Titerabfall 99,99%
M	Titerabfall 99,999%
N	Titerabfall 99%
O	Titerabfall über 99,999%
P	Titerabfall über 99,9999%
Q	pH des Wassers 7,2
R	pH des Wassers 8,2
S	pH des Wassers 7,98. Wasser nicht nachgewiesenermassen virusfrei
T	Kein Titerabfall
U	"Verschmutztes Wasser"
V	"Natürliche Temperatur"
(1)	Flußwasser mit häuslicher und industrieller Abwasserbelastung
(2)	Flußwasser mit häuslicher Abwasserbelastung
(3)	Seewasser ohne Abwasserbelastung
(4)	Flußmündungswasser, durch UV-Strahlung sterilisiert
(5)	Flußmündungswasser, natürlich
(6)	Wasser autoklaviert
(7)	Wasser gering verschmutzt
(8)	Wasser stark verschmutzt
(9)	Wasser mittelmässig verschmutzt
(10)	Wasser filtriert (Millipore ϕ 0,02u)
A.d.	Destilliertes Wasser

2.5. METHODEN ZUR INAKTIVIERUNG VON VIREN IN TRINK- UND OBERFLÄCHENWASSER

2.5.1. Desinfektionsverfahren

2.5.1.1. Chlor

Die Notwendigkeit der Entkeimung von Trinkwasser wurde gegen Ende des letzten Jahrhunderts erkannt, als man feststellte, daß im Wasser Bakterien leben, die krankheitserregende Eigenschaften besitzen. Mit Chlor hatte man ein Desinfektionsmittel zur Hand, das stark, im Anwendungsbereich nicht toxisch und in der Anwendung vielseitig genug war, um die Abtötung dieser Organismen zu erreichen. Dies ist sicherlich auch der Grund, warum Chlor und Chlorverbindungen bis zum heutigen Tage die am häufigsten benützten Chemikalien zur Wasserdesinfektion darstellen. Trotzdem in den vergangenen Jahrzehnten ein hohes Maß an praktischen Erfahrungen im Umgang mit diesem Desinfektionsmittel gewonnen werden konnte, hat man sich erst in den letzten Jahren mit den chemischen und biologischen Vorgängen der Chlor-desinfektion befaßt.

Chlor kann in verschiedener Form als Wasserdesinfiziens verwendet werden. Freies elementares Chlor (Cl_2) und Hypochloritchlor (HOCl) werden als freies wirksames Chlor, anorganische und organische Chloramine (Mono- und Dichloramine) sowie chlorierte organische Aminoverbindungen als gebundenes wirksames Chlor bezeichnet. Chloramine und chlororganische Substanzen entstehen durch die Reaktion von Chlor mit Ammoniak und anderen stickstoffhaltigen Substanzen (FAIR und MORRIS, 1948; HÜLL, 1970; KELLY und SANDERSON, 1960). Zur Desinfektion wird ausserdem noch Chlordioxid ClO_2 benützt.

Freies wirksames Chlor In wässriger Lösung spielen sich nach Zusatz von Chlor bzw. Hypochlorit folgende Reaktionen ab:



Daraus geht hervor, daß Chlorlösungen und Hypochloritlösungen bei gleichem pH-Wert die gleiche desinfizierende Wirkung be-

sitzen (FAIR und MORRIS, 1948). Die Reaktionen 1. und 2. sind abhängig vom pH-Wert der Lösung, der Temperatur und von der Konzentration der Ausgangsstoffe. Messbares molekulares Chlor existiert nur bei einem pH-Wert unter 3 und bei mehr als 7,1mg/l freiem Chlor. Die pH-Abhängigkeit geht aus der folgenden Tabelle hervor (FAIR und MORRIS, 1948; PALIN, 1950):

Tabelle 5:

pH	HOCl in % bei 20°C
4	100,0
6	96,8
7	75,2
8	23,3
10	0,3

Bei einem pH-Wert von 7,7 liegen HOCl und OCl^- je etwa zur Hälfte vor (WEIDENKOPF, 1958). Nach den Angaben von BERG (1965), CLARKE und KABLER (1954) und MORRIS (1971) ist das undissoziierte HOCl ein bedeutend wirksames Agens als das Hypochlorit-ion. SCARPINO und Mitarbeiter (1972) stellten dagegen experimentell fest, daß letzteres siebenmal wirksamer gegenüber Polioviren ist als HOCl. In Zusammenhang mit der Wasserdesinfektion mit freiem wirksamen Chlor interessiert vor allem auch die Frage der Stabilität in wässriger Lösung. THRAENHART und KUWERT (1975) ermittelten über einen Zeitraum von 30 Minuten in destilliertem Wasser (pH=6,0) keinen Verlust, in Brunnenwasser (pH=6,8, sandfiltriertes Brauchwasser) hingegen einen solchen von 50%. KELLY und SANDERSON (1958) verfolgten den Verlust an freiem Restchlor über den Zeitraum von zwei Stunden und verzeichneten nach 16 Minuten 0,08mg/l, nach einer Stunde 0,15mg/l und nach zwei Stunden 0,18mg/l.

Die hauptsächliche Virusinaktivierung erfolgt in den ersten Minuten; so wird beispielsweise Poliovirus Typ 1 bei 20°C und 0,5mg/l Cl_2 in Brunnenwasser innerhalb der ersten fünf Minuten zu 99,99%, nach 60 Minuten erst zu 99,999% inaktiviert; danach findet keine weitere Inaktivierung mehr statt (THRAENHART und

KUWERT, 1975). Ebenfalls von grosser Bedeutung für experimentelle Arbeiten mit Chlor ist die stattfindende Chlorzehrung, die durch ungereinigte Virussuspensionen, die Eiweißsubstanzen aus den Zellmedien und Zellbestandteile enthalten, entstehen kann. Mit folgender Chlorzehrung muß gerechnet werden (THRAENHART und KUWERT, 1975):

Tabelle 6:

Chlorzehrung %			
Zeit (Min.)	Kälberserum %		
	0	0,0075	0,0125
15	12	99,88	100,0
30	16	99,98	100,0
60	22	100,0	100,0

Versuchsbedingungen: 20°C, pH 5,8-6,4, 0,43-0,51mg/l Cl₂

Auch von HETTICHE und SCHULZ-EHLBECK (1953) wird darauf hingewiesen, daß zur richtigen Interpretation von experimentellen Ergebnissen mit freiem Chlor die Verwendung von hochgradig gereinigtem Virus notwendig ist.

Die Geschwindigkeit der Inaktivierung mit freiem Restchlor ist abhängig von 1. dem Virusstamm

2. der Temperatur

3. der Konzentration an Restchlor

4. dem pH-Wert (KELLY und SANDERSON, 1958).

Von den gleichen Autoren konnte dargelegt werden, daß neben den Unterschieden in den Virusarten auch noch Stammesunterschiede bestehen: Die untersuchten Poliomyelitisstämme (Typ 1) Mk500, 487 und Mahoney unterschieden sich teilweise erheblich. Nach Angaben der Autoren ergeben höhere Mengen von Restchlor und höhere Temperaturen lineare Inaktivierungskurven, ebenso wie pH-Werte zwischen 6 und 8 für das Coxsackievirus.

Der Anteil der Viruspopulation, welcher der Chlorung widersteht (0,5 - 1%), weicht nach Ansicht von LOVTSEVICH (1973) genetisch nicht ab - vielmehr spielt wahrscheinlich die Aggregation von Viren eine Rolle.

Gebundenes wirksames Chlor Die Anwendung von gebundenem Chlor erfordert höhere Konzentrationen und längere Einwirkungszeiten, wenn man damit die gleiche Inaktivierungsrate wie mit freiem Chlor erhalten will (BERG, 1966; DOZANSKA und DOBROWOLSKA, 1968; KELLY und SANDERSON, 1958; KRUSÉ und Mitarbeiter, 1971).

Die Entstehung der Chloramine läuft in drei Schritten ab:



Die Reaktion 1. - die Entstehung von Monochloramin - ist stark pH- und temperaturabhängig. Eine maximale NH_2Cl -Bildung findet bei $\text{pH}=8,3$ statt. Dichloramine werden besonders bei $\text{pH } 5,0-6,5$ gebildet. Die inaktivierende Wirkung von gebundenem Chlor ist deshalb stark pH-abhängig, weil bei steigendem pH-Wert die weniger viruziden Monochloramine überwiegen (KELLY und SANDERSON, 1960):

Tabelle 7:

pH	mg Restchlor (Chlor:Stickstoff=2:1)		
	Monochlor- amine	Dichlor- amine	Total
6	0,69	0,52	1,21
7	0,73	0,43	1,16
8	0,82	0,41	1,23
9	0,83	0,38	1,21
10	0,86	0,41	1,27

Auch gebundenes Restchlor unterliegt einem Verlust seiner Stabilität mit zunehmender Zeit; dieser beträgt nach 60 Minuten 0,125mg/l, nach 2-12 Stunden 0,15mg/l (KELLY und SANDERSON, 1960).

Ist das Ausgangsverhältnis von Chlor zu NH_3 -Stickstoff geringer als 5:1, so liegen hauptsächlich Monochloramine vor, bei einem Verhältnis von 10:1 mehr Dichloramine und Trichlorid. Lösungen, die Mono- und Dichloramine gleichzeitig in größeren Mengen enthalten, sind instabil (PALIN, 1950).

Trägt man das nach einer bestimmten Kontaktzeit vorhandene

Restchlor gegen die entsprechende Chlordosis graphisch auf, so erhält man Kurven mit dem sogenannten "Breakpoint". Diese Eigenschaft beruht darauf, daß für ein bestimmtes Wasser, das Stickstoffverbindungen enthält, die chemischen Endprodukte größtenteils von dem Ausgangsverhältnis Chlor:Stickstoff abhängen. Dieses Wasser zeigt bei der Chlorung einen Knickpunkt, bei dem die Umsetzung des Chlors mit den organischen Stoffen beendet ist. Diese "Breakpoint"-Reaktion ist stark pH- und nur wenig temperaturabhängig. Auch die Konzentration der gelösten Salze spielt eine Rolle (FAIR und MORRIS, 1948; HÖLL, 1970; PALIN, 1950). Bei einem pH-Wert von 7-8, wie er in vielen Wässern vorherrscht, ist für eine Knickpunkt-Chlorung ein anfängliches Cl:N-Verhältnis von 8,2:1 bis 8,4:1 notwendig. Chlorwerte, die über oder unter den angegebenen liegen, resultieren in einer langsam zunehmenden Menge von verfügbarem Restchlor (PALIN, 1950). In Wasser mit 0,3-1,0mg/l organischem Stickstoff liegt der optimale pH-Wert für die Chlorung mit freiem Restchlor bei 7,5, weil hier der relativ höchste Anteil HOCl vorliegt und eine geringere Tendenz zur Bildung von NCl_3 gegeben ist als in sauren Wässern (MORRIS, 1971).

Chlor wie auch Ozon wird durch organische Beimengungen im Wasser abgebaut. Damit erfolgt zwangsläufig eine Erniedrigung des Redoxpotentials (THRAENHART und KUWERT, 1975). Aber auch durch bestimmte anorganische Substanzen kann Chlor reduziert werden. Dazu zählen Eisen-II-Ionen, Mangan-, Sulfid- und Nitritionen (FAIR und MORRIS, 1948). Die Chlorzehrung durch anorganische Substanzen geht meist schnell, die mit organischen Beimengungen langsam vor sich.

Chlordioxid ist ein starkes Desinfektionsmittel, das dem HOCl gleichkommen soll (BERG, 1965; MORRIS, 1971). Es ist weder durch Ammoniak noch durch den pH-Wert zu beeinflussen.

TRACHTMANN (1949/50) beobachtete einen Anstieg der Redoxpoten-

tiale in der Reihenfolge Chlorammin - Chlorkalk - Chlor - Chlordioxid. Dies läßt ebenfalls auf eine starke viruzide Wirkung schliessen. Genaue Ergebnisse liegen bisher nicht vor.

Erläuterungen zu Tabelle 8 auf Seite 48-51:

- A Chlorkonzentration $\pm 10\%$
- B Chlorkonzentration $\pm 15\%$
- C Chlorkonzentration $\pm 25\%$
- D Versuchswasser chlorzehrungsfrei
- E Virusanfangsgehalt $4 \cdot 10^5$ KID₅₀/Probe. Wasser mit 0,5%
organischem Material belastet.
- F In Anwesenheit von 10^{-3} Mol Ammonium-Ionen
- G Virusanfangsgehalt 10^6 /Probe
- H Zimmertemperatur
- J Restchlor 0-0,15mg/l
- K Restchlor 0,15-0,95mg/l
- L Restchlor bis 0,05mg/l
- M Restchlor Null
- N Restchlor 0,05-0,20mg/l
- n.n. Virus nicht nachweisbar
- O Restchlor 0,18-0,24mg/l
- P Restchlor 0,66mg/l
- Q Restchlor 0,40mg/l
- R Virusanfangsgehalt 10^3 KID₅₀/ml
- RC Restchlor
- s Sekunden
- T Virus in Seewasser
- U In destilliertem Wasser
- V In Leitungswasser mit Restchlorgehalt von 0,03mg/l
- W In Brunnenwasser
- X Virus nur teilweise gereinigt

Tabelle 8: Wirksamkeit von freiem Chlor bei der Wasseresinfektion

Virusart	Konzentration mg/l	Inakti- vierung %	Zeit (Min)	Tempe- ratur °C	pH- Wert	Bemer- kung	Autoren
Coxsackie A2	0,60	99,6	9,7	3-6	6,9-7,1	A	CLARKE und KABLER, 1954
	2,10		4,1				
	4,00		2,3				
	1,95	99,6	24,0	3-6	8,8-9,0	A	
	4,00		8,8				
7,90	4,6	27-29	6,9-7,1 8,8-9,0	A B C A			
0,17	3,8						
1,00	1,7						
0,12	9,6						
0,95	3,2						
Adeno Typ 3	0,1	99,8	180s	4	8,8-9,0	R	CLARKE und STEVENSON, 1956
	0,2		80-110s				
	0,5		30-40s				
	0,1	99,8	120-140s	25	8,8-9,0	R	
	0,2		40-50s				
0,5	8-16s	4	6,9-7,1	R			
0,1	18-25s						
0,2	8-20s						
0,5	< 10s						
0,1	8-16s				25	6,9-7,1	R
0,2	8-16s						
0,5	8s						
EMC-Virus	0,25	n.n.	10	7		G	HETTICHE und SCHULZ-EHLBECK, 1953
	0,10	n.n.	10	7		G	
	0,05	ca. 0	10	18		G	

Erläuterungen siehe Seite 47

Polio Typ 3	0,1-0,2 0,1-0,2 0,2-0,3 0,2-0,3	99,9 99,9 99,9 99,9	2 16 3 8	25-28 25-28 25-28 25-28	7,0 9,0 7,0 9,0		CLARKE und CHANG, 1959
Polio Typ 1							
Polio Typ 2	4,5-9,0 2,5-7,0 2,2-4,0 6,0 1,0-1,5	n.n. n.n. n.n. n.n. n.n.	10 10 10 30 10	21-25 21-25 19-25 21-26 19-25	7,0-7,4 7,0-7,4 7,4-7,9 8,0-11,0 7,4-7,9	J,X K,X L,X M,T,X N,T	CLARKE und CHANG, 1959
Theiler- Virus Hepatitis -A Antigen	4,0-6,0 4,0-6,0 3,25	98,6 99 n.n.	10 5 30	25-27 25-27 (H)	6,5-7,0 6,5-7,0 6,7-6,8	O,X P,X Q	CLARKE und CHANG, 1959
Coxsackie A2 Polio Typ 1 Adeno Typ 3	0,1	n.n.	40 8,5 0,55	0-6 0-6 0-6			CLARKE und Mitarbeiter, 1964
E.coli- Phage f2	2,0RC	5	30	0	7,0	F	KRUSE und Mitarbeiter, 1971
Polio	1,5	n.n.	25				RUYS, 1957
Polio Typ 1 E.coli- Phage f2	4,0	99 90-99	90 90				SHAH und McCAMISH, 1972

Erläuterungen siehe Seite 47

Fortsetzung Tabelle 8:

Polio Typ 1	0,1	90-99	1,25	20	6,0	U	THRAENHART und KUWERT, 1975
	0,1	99	3,25	20	6,0	U	
	0,1	99-99,9	5,25	20	6,0	U	
	0,5	99,99	1,25	20	6,0	U	
	0,5	99,99	3,25	20	6,0	U	
	0,5	99,99	5,25	20	6,0	U	
Polio Typ 1	0,1	90-99	1,25	20	6,9	V	THRAENHART und KUWERT, 1975
	0,1	99-99,9	3,25	20	6,9	V	
	0,1	ca. 99,9	5,25	20	6,9	V	
	0,5	99,99	1,25	20	6,9	V	
	0,5	99,99	3,25	20	6,9	V	
	0,5	99,99	5,25	20	6,9	V	
Polio Typ 1	0,1	99-99,9	1,25	20	6,8	W	TRAENHART und KUWERT, 1975
	0,1	99-99,9	3,25	20	6,8	W	
	0,1	99-99,9	5,25	20	6,8	W	
	0,5	90-99	1,25	20	6,8	W	
	0,5	99,99	3,25	20	6,8	W	
	0,5	99,99	5,25	20	6,8	W	
Polio Typ 1	10,0	0	5,0	20	5,2	E	VARMA und Mitarbeiter, 1974
	10,0	67	60,0	20	5,2	E	
	14,0	17	5,0	20	5,2	E	
	14,0	n.n.	60,0	20	5,2	E	
	22,0	n.n.	5,0	20	5,2	E	
Adeno ECHO Hepatitis	0,2-2,0	99	30,0				WALLHÄUSSER und SCHMIDT, 1967
	0,2-2,0	99	30,0				
	0,2-2,0	99	30,0				

Tabelle 9 : Wirksamkeit von gebundenem Chlor bei der Wasserdesinfektion

Virusart	Konzentration mg/l	Inaktivierung %	Zeit (Min)	Temperatur °C	pH-Wert	Bemerkung	Autoren
Coxsackie B5	1,0RC	99,7	3 4 5	25 25 25	7,0 8,0 9,0		KELLY und SANDERSON, 1960
Polio Typ 1 (Mk500)	0,5RC	99,7	6	25	6,0		KELLY und SANDERSON, 1960
	2,0RC	99,7	2	25	6,0		
	0,5RC	99,7	7	25	7,0		
	5,0RC	99,7	1,5	25	7,0		
	0,5RC	99,7	12,0	25	8,0		
	2,0RC	99,7	4,0	25	8,0		
	1,0RC	99,7	6-8	25	9,0		
Polio Typ 1	9,0 0,5	99 99	0,5 7,0	25 25	7,0 7,0		CLARKE und Mitarbeiter, 1964
Theiler	5,2 9,1	87,5 90,0	60 10	26 26	} 6,8- 7,1	A	zitiert nach CARLSON, 1965
Polio	3-10 18-30	n.n. n.n.	240 240	20 4	6-10 -		DOZANSKA und DOBROWOLSKA, 1966

Erläuterungen: A = Verhältnis Chlor:Stickstoff=2:3

n.n.= Virus nicht nachweisbar

RC = Restchlor

2.5.1.2. Ozon

Die Trinkwasserdesinfektion mittels Ozon ist in den Vereinigten Staaten und in Europa verbreitet. Rund ein Drittel der öffentlichen Trinkwasserversorgung von Paris wird derzeit ozonisiert - und zwar mit der Begründung, daß es infolge der starken Verschmutzung der Oberflächengewässer sehr schwierig ist, den Gehalt an freiem Chlor in solchen Wässern zu halten. Der größte Teil des Chlors verbindet sich nämlich mit Wasserinhaltsstoffen und bildet Chlorverbindungen mit wenig oder keinem Desinfektionsvermögen. Deshalb wären sehr hohe Chlordosen notwendig, die aber beim Endverbraucher nicht beliebt sind (COIN, 1967). In den USA wird Ozon u.a. zur Desinfektion von Mineralwasser in grösserem Umfang benützt. Auch in Kanada, der Schweiz, in der Bundesrepublik Deutschland und in der DDR findet sich ozonisiertes Trinkwasser (HARRIS, 1972; HÜLL, 1970; SPROUL, 1972).

Ozon ist das stärkste bekannte Oxydationsmittel. Seine keimtötende Wirkung besteht in der Abspaltung von naszierendem Sauerstoff durch den Zerfall des Ozonmoleküls.

Das O_3 -Molekül ist nicht stabil; nach der Zugabe zum Trinkwasser zerfällt es in relativ kurzer Zeit. Deshalb erreicht man mit Ozon keine dauerhafte Desinfektionswirkung.

THRAENHART und KUWERT (1975) untersuchten die Stabilität von Ozon in zweifach-destilliertem Wasser bei Zimmertemperatur mit verschiedenen Ozonkonzentrationen. Es zeigte sich ein für alle Konzentrationen nahezu gleichsinniges Verhalten, wenn Ozon in Lösung gegangen war. Die Zerfallsgeschwindigkeit von Ozon war ca. 4-5mal größer als die von Chlor und betrug ca. 2-3% der angewandten Menge pro Minute. Als Desinfektionsmittel wird Ozon ebenso wie Chlor durch Wasserinhaltsstoffe wie beispielsweise Schwebestoffe aufgebraucht. Es kommt in Abhängigkeit vom Verschmutzungsgrad des Wassers zu einer entsprechenden Chlorzehrung. Die Zehrung von Ozon durch organische Bestandteile ist sogar stärker ausgeprägt als die Chlorzehrung.

Die Anwendung von Ozon bietet neben seiner bakteriziden und Viruziden Wirkung auch den Vorteil der Wasserschönung. Geruchs-, Geschmacks- und Farbstoffe werden aus dem Wasser entfernt. Aus hygienischen Gesichtspunkten ist Ozon als Wasserdesinfiziens ideal, weil dem Wasser keine Fremdchemikalien zugesetzt werden und seine Wirkung auch in kalten Wässern nicht bedeutend abfällt (HETTICHE, 1953). Ozon kann in eisenhaltigen Wässern Trübungen und in sehr harten Wässern Kalkabscheidungen hervorrufen (HÖLL, 1970). Die keimtötende Wirkung von Ozon ist stark pH-abhängig. Die optimale Wirkung wird bei pH=7 erzielt (HÄSSELBARTH, 1973).

In seinen Versuchen zur Inaktivierung von Viren mittels Ozon stellte SPROUL (1972) fest, daß Kontaktzeiten von mehr als 2,5 Minuten nur geringfügige zusätzliche Inaktivierung ergaben. Dies mag mit an dem schnellen Zerfall des Ozon-Moleküls liegen. Eine ähnliche Beobachtung machten auch MAJUMDAR und Mitarbeiter (1973); sie fanden eine Konzentrationsschwelle von 1,0mg/l Ozon. Unterhalb dieses Wertes war ein langsamer, linearer Virusabfall pro Zeiteinheit zu verzeichnen, darüber kam es zu einem plötzlichen Abfall der Überlebensrate. THRAENHART und KUWERT (1975) zeigten in ausführlichen Versuchen, daß die starke viruzide Wirkung des Ozon in weit größerem Maße als bei Chlor vom Redoxpotential des Wassers abhängig ist. Mit Zunahme des Redoxpotentials, z.B. in Brunnenwasser, waren zunehmende Mengen von Ozon erforderlich, um eine ausreichende Virusinaktivierung zu erzielen. Bis zu einer Menge von 0,5mg/l erfolgte keine Virusreduktion, erst 1,0-1,5mg/l Ozon führten zu einer starken Konzentrationsabnahme der Viren.

Die Ozonierung von Trinkwasser bei gleichzeitiger Ultraschallbehandlung ergibt bessere Desinfektionsergebnisse, weil dadurch Partikel aus organischem Material sowie Virusaggregate aufgebrochen werden und damit dem Ozon zugänglich gemacht werden (BURLESON und Mitarbeiter, 1975).

Folgende Anhaltswerte werden für die Desinfektion von Wasser

mittels Ozon empfohlen (HARRIS, 1972):

Grundwasser (wenig Trübung und Mineralien gute bakterielle Qualität)	0,25-0,50mg/l
Oberflächenwasser (gute bakterielle Qualität)	2,0 -3,0 mg/l
Wasser mit schlechter Qualität	2,5 -5,0 mg/l

Ein Ozonüberschuß von 0,1 - 0,2mg/l sollte gewährleistet sein
(STELLMACHER, 1974).

Erläuterungen zu Tabelle 10, Seite 56-57

- A In destilliertem Wasser
- B pH-Wert des Wassers 6,9
- C Angegebene Zeit und Konzentration "zerstörte" das Virus
- D Nachweis im Tierversuch. Virusanfangsgehalt $10^6/0,2\text{ml}$
- E Wasser mit organischen Bestandteilen
- F Anfangsgehalt 10^5-10^6 PBE/ml
- G Restozongehalt 0,23mg/l
- H In Oberflächenwasser
- J Virusanfangsgehalt um den Faktor 10 höher
- K In destilliertem Wasser, pH=6, 20°C.
- L In Leitungswasser mit 0,03mg/l Restchlor, pH=6,9, 20°C
- M In Brunnenwasser, pH=6,8, 20°C
- N 99,0 - 99,9999%
- AO Restozongehalt

Tabelle 10: Wirksamkeit von Ozon bei der Wasserdesinfektion

Virusart	Ozonkonzentration mg/l	Inaktivierung %	Zeit (Min.)	Temperatur °C	Bemerkung	Autoren
Polio Polio	0,05-0,45 RO		2	20	B	KESSEL und Mitarbeiter, 1943
	0,05-0,45 RO		30	20	B, J	
EMC-Virus	0,15		10	7	D	HETTICHE und SCHULZ- EHLBECK, 1953
	0,10		10	18	D	
Polio Typ 1	0,30	99,99	4			COIN und Mitarbeiter, 1964
	0,10	99	4			
Polio Typ 3 Coxsackie B3	0,1-0,2 RO	> 99	10		E	SUČKOV, 1964
	0,1-0,2 RO	> 99	10		E	
Polio Typ 1 Polio Typ 2/3	0,4 RO		30		C	COIN und Mitarbeiter, 1964
	< 0,4 RO		30		C	
E.coli- phage T1	0,5-0,55		5		G, H	CARAZZONE und VANINI, 1969
Polio Typ 1	0,15	50	2,5		A	SCHAFFERNOETH, 1970
	0,15	57	5,0		A	
	0,75	95	2,5		A	
	0,75	96	5,0		A	
	0,75	95	10,0		A	
	1,27	99,99	2,5		A, G	
	1,27	> 99,99	5,0		A	
	1,27	> 99,99	10,0		A	

Erläuterungen siehe Seite 55

Fortsetzung Tabelle 10:

E.coli- phagen T1/2/3 ND-Virus	2,0 2,0-7,6	N	2	F	HÄUFLE und SPROCKHOFF, 1973
Polio Typ 1	0,2-1,5	99,9	40	5	KATZENELSON und Mitarbeiter, 1973
Polio Typ 1	1,0 0,5 0,5 0,5 0,1 0,1	99 ca.90 < 90 95 ca.99 90 ca.90	4 2 4 6 8 2-6 8	A	MAJUMDAR und Mitarbeiter, 1973
EMC-Virus VSV	0,4 R0 0,4 R0	99,999 99,999	15 Sek.		BURLESON und Mitarbeiter, 1975
Polio Typ 1	0,10 0,25 0,50 0,75 0,10 0,25 0,50 0,75 0,10 0,50 0,75 1,00 1,50	ca.99,9 > 99,9 > 99,9 > 99,9 0 99,9 > 99,9 > 99,9 0 0 90 ca.99 > 99,9	1,25 1,25 1,25 1,25 1,25 1,25 1,25 1,25 1,25 1,25 1,25 1,25 1,25	K K K K L L L L M M M M M	THRAENHART und KUWERT, 1975

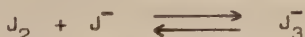
Erläuterungen siehe Seite 55

2.5.1.3. Jod

Jod wird als Trinkwasserdesinfiziens im wesentlichen nur für kleine Wassermengen und bei Notfällen angewendet. Seine viruziden Eigenschaften sind geringer als die von freiem Chlor, besonders bei niedrigen Temperaturen. Trotzdem zerstört ein Restjodgehalt von 5mg/l in 15 Minuten und bei üblichen Trinkwassertemperaturen wenigstens 99% aller Viren (CLARKE und CHANG, 1959). Viruzide Jodverbindungen sind das elementare Jod J_2 und die Hypojodsäure HOJ, die durch Hydrolyse des Jod entsteht. Die Hypojodsäure ist viruzider als das elementare Jod (BERG, 1965). In wässrigen Lösungen liegt bei pH-Werten um 6 der größte Teil des Jod als J_2 vor, bei pH=8 aber als HOJ. In der Nähe des Neutralpunktes finden sich J_2 und HOJ zu je etwa 50%. Allerdings ist dies von der Gesamtkonzentration des Jod abhängig: Bei einer titrimetrischen Gesamtkonzentration von Jod von 0,5mg/l wird erst bei pH-Werten über 6 signifikant J_2 hydrolysiert, bei 5,0mg/l erst über pH=7. Bei pH-Werten über 8 entsteht das nicht-viruzide HOJ_3 :



Bei höheren Jodkonzentrationen spielt auch noch folgende Reaktion eine Rolle:



Das J_3^- - Molekül besitzt ebenfalls keine viruziden Eigenschaften.

Jod hat gegenüber Chlor den Vorteil, daß es mit Ammoniak und organischen Stickstoffverbindungen nicht reagiert. Es bilden sich keine Jodamine und somit kommt es zu keiner signifikanten Jodzehrung (BERG, 1965; CHANG, 1958; MORRIS, 1971). BERG (1973) berichtet, daß E.coli und andere Bakterien gegenüber Jod bedeutend empfindlicher sind als Viren.

Jod ist in den Konzentrationen, die zur Desinfektion von Trinkwasser benutzt werden, sicher für den menschlichen Genuß. Eine Tagesdosis von 12mg verursacht keine Krankheitserscheinungen (BERG, 1965). Eine Literaturübersicht über die Wirksamkeit von Jod findet sich auf Seite 61, Tabelle 11.

2.5.1.4. Brom

In den Vereinigten Staaten wird Brom vereinzelt als Desinfektionsmittel für Schwimmbadwasser verwendet. Auch in der Schweiz gelangt es versuchsweise zu diesem Zweck zur Anwendung. Brom verhält sich in seinen wesentlichen Eigenschaften ähnlich wie das Chlor, so daß seine Anwendung keine großen Vorteile bietet. Brom hydrolysiert in wässriger Lösung zur Hypobromsäure HOBr , die wiederum zum OBr^- -Ion ionisiert. Diese Ionisierung findet etwa eine pH-Stufe höher statt als bei der unterchlorigen Säure (MORRIS, 1971). Die viruzide Wirkung des HOBr entspricht etwa der von HOCl ; ein Nachlassen der Wirkung in wässriger Lösung erfolgt bei pH-Werten über 8,5. Die Hypobromsäure bildet mit Ammoniak und anderen stickstoffhaltigen Substanzen Bromamine. Diese haben etwa die gleiche viruzide Wirkung wie die Hypobromsäure selbst, so daß es zu keinem wesentlichen Verlust der Desinfektionskapazität in eiweißreichem Medium kommt (BERG, 1973; MORRIS, 1971).

KRAUSE und Mitarbeiter (1971) behaupten dagegen, daß organische Bromamine kaum viruzide, wohl aber gute bakterizide Eigenschaften besitzt. Sie konnten eine Virusinaktivierung nur bei gleichzeitiger Gegenwart von freiem Restchlor feststellen. Eine vollständige Inaktivierung trat nur bei niedrigem pH-Wert ein. STÄHELI (1973) berichtet über einen Versuch in einem Hallenbad, in dem anstatt Chlor ein Bromidsalz zur Desinfektion eingesetzt wurde. Die bakteriellen Resultate waren eindeutig schlechter als bei der Verwendung von Chlor. Die Absicht, eine deutliche Langzeitwirkung durch die Oxydation von Bromid-Ionen zu Hypobromsäure zu erreichen, scheiterte daran, daß selbst beim Zusatz von 20mg/l Bromidionen nur sehr geringe Mengen von Hypobromsäure festgestellt werden konnten. BURGER (1973) konnte zeigen, daß eine Bromkonzentration von 0,3-0,4mg/l zufriedenstellende Resultate bezüglich der Inaktivierung von coliformen Bakterien erbrachte, die denen mit Chlor-

gas und der Hypochloritdesinfektion gleichwertig waren. Ab 0,4mg/l Bromrestgehalt traten Klagen über unangenehmen Geruch und Schleimhautreizungen auf. Eine Aussage über den Einfluß von Brom auf die Virusinaktivierung erlauben diese Versuche nicht.

Tabelle 11: Wirksamkeit von Jod und Brom bei der Wasserdesinfektion

Virusart	Temperatur °C	Konzentration Jod(J ₂), Brom(Br)	Inaktivierung %	Zeit (Min.)	Bemerkung	Autoren
Coxsackie A9	5	0,27m.e.J ₂ /l	99,99	81		
Coxsackie A9	5	0,12m.e.J ₂ /l	99,99	190		
Coxsackie A9	15	0,30m.e.J ₂ /l	99,99	17		Berg und Mitarbeiter, 1964
Coxsackie A9	15	0,10m.e.J ₂ /l	99,99	55		
Coxsackie A9	25	0,14m.e.J ₂ /l	99,99	6		
Coxsackie A9	25	0,04m.e.J ₂ /l	99,99	19		
Coxsackie A9	5	0,10m.e.J ₂ /l	99,0	125		
Coxsackie A9	15	0,10m.e.J ₂ /l	99,0	25		
Coxsackie A9	25	0,10m.e.J ₂ /l	99,0	5		Berg, 1973
Coxsackie B1	25	40ppm J ₂ /l	99,999	1,8	A, B	
Coxsackie B1	25	20ppm J ₂ /l	99,999	3,3	A, B	
Coxsackie B1	25	10ppm J ₂ /l	99,999	6,4	A, B	Chang, 1958
Coxsackie B1	25	5ppm J ₂ /l	99,999	13,0	A, B	
Coxsackie A2,B1	25	5ppm J ₂ /l	99,6	6,0	B	
Coxsackie A2,B1	25	10ppm J ₂ /l	99,6	3,5	B	Clarke und Chang, 1959
Coxsackie A2,B1	25	15ppm J ₂ /l	99,6	2,25	B	
ECHO Typ 7	5	1,0mg J ₂ /l	99,0	110		zitiert nach Poynter, 1968
REO Typ 3		7,0µM Br	99,999	+1		Sharp und Mitarbeiter, 1975
REO Typ 3		5,4µM Br	99,99	5		

Erläuterungen:

m.e. = Milliäquivalent (=0,127g)

ppm = Pars per million (10⁻⁶)

µM = 10⁻⁶ Mol

A = J₂:J₂ Gleichgewicht = 90-97:3-10

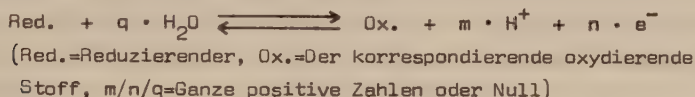
B = RestJod

2.5.1.5. Redoxpotential

Chlor und andere chemische Desinfektionsmittel sind Oxydationsmittel und reagieren als solche mit verschiedenen organischen und anorganischen Substanzen. Mit jedem Oxydationsvorgang ist ein Reduktionsvorgang verbunden (Redox-Reaktion). Chemisch läßt sich dies so ausdrücken:

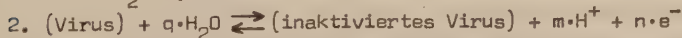
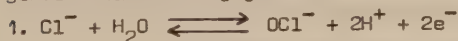


Die Bruttoumsatzgleichung eines Redox-Systems in wässriger Lösung stellt sich folgendermassen dar:



Jedes Redoxsystem hat ein eigenes Potential, das sogenannte Normalpotential. Dieses läßt sich ermitteln, indem man eine Platinelektrode in die wässrige Lösung taucht. Durch Elektronenaufnahme und -abgabe bildet sich ein Potential aus, das mit Hilfe eines Voltmeters gegen eine Bezugselektrode (Kalomelektrode in gesättigter Kaliumchloridlösung) gemessen wird. Die Potentialdifferenz zwischen der Bezugselektrode und dem Metall (Platin), auf dem sich die oxydierenden und reduzierenden Vorgänge abspielen, wird als Redoxpotential bezeichnet.

Überträgt man diese Vorgänge auf die Virusinaktivierung z.B. mittels Chlor, so stehen sich die folgenden Reaktionen gegenüber:



Nach LUND (1970) ergibt sich unter Anwendung des Massenwirkungsgesetzes die folgende Gleichung, die alle Faktoren enthält, um die Inaktivierung von Viren durch Chlor oder andere oxydative Behandlungen zu verstehen:

$$E = E_0 + \frac{R T}{n F} \ln \frac{(Ox)}{(Red)} - \frac{m R T}{n F} pH$$

Die einzelnen Größen haben dabei folgende Bedeutung:

E = Oxydationspotential, gemessen gegen die Normalelektrode

E_0 = Normalpotential: Ergibt sich aus dem Elektrodenpotential bei äquivalenten Mengen von (Ox) und (Red) und ist für jedes Redoxsystem spezifisch

R = Allgemeine Gaskonstante

F = Faraday'sche Zahl

n = Elektronenübergangszahl

T = Absolute Temperatur ($^{\circ}K$)

Aus dieser Gleichung ergibt sich eine direkte Abhängigkeit des Redoxpotentials von

1. der Art des Oxydationsmittels (E_0)
2. seiner Konzentration
3. der Wasserstoffionenkonzentration (pH) und
4. der Temperatur

Nach CARLSON (1970) gilt diese Gleichung nur für reversible Reaktionen und ist nur anwendbar, wenn aufgrund reaktionskinetischer Untersuchungen die Elektronenübergangszahl festgestellt wurde. Bei gechlorten Wässern ist die Gleichung nicht anwendbar, weil Chlor mit einer Vielzahl von Wasserinhaltsstoffen reagiert, so daß sich an der Elektrode ein Mischpotential einstellt; ausserdem ist anzunehmen, daß die stattfindenden Reaktionen irreversibel sind. Deshalb ist eine Einschätzung der Beziehungen zwischen Redoxpotential und pH-Wert nicht möglich und es muß zur Kennzeichnung des Redoxpotentials im Wasser der pH-Wert angegeben werden.

LUND (1970) bestätigt diese Ansicht, allerdings mit einer wesentlichen Einschränkung. Die ablaufenden Reaktionen sind tatsächlich nur teilweise reversibel, so daß die gemessenen Potentiale keine wahren Redoxpotentiale sind. Trotzdem sind sie reproduzierbar und in der Beurteilung der Oxydationsintensität sehr nützlich. Wesentlich ist allein, daß sich das Gesamt-

potential einer Mischung von Viren und Verunreinigungen messen läßt. Die vorliegende Gleichung läßt sich experimentell auffallend korrekt bestätigen. Auch die Bedeutung des pH-Wertes geht aus der Gleichung klar hervor: Eine Erhöhung des pH-Wertes bewirkt eine Erniedrigung des Redoxpotentials und damit eine langsamere Virusinaktivierung.

Die Abtötung von im Wasser vorhandenen Keimen kann bedingt sein a) durch die Höhe des Redoxpotentials oder b) auf einer direkten oxydativen Schädigung des Virus durch das Oxydationsmittel. Im letzteren Fall ergibt sich eine strenge Abhängigkeit der Keimtötung von der Konzentration des Oxydationsmittels (CARLSON, 1970). Dies konnte jedoch experimentell nicht bestätigt werden, so daß der Autor die Inaktivierung auf die Höhe des Redoxpotentials zurückführt.

CARLSON (1970) und LUND (1961, 1963, 1966, 1970) untersuchten systematisch den Einfluß des Redoxpotentials auf die Inaktivierung von Poliomyelitis- und Adenoviren unter besonderer Berücksichtigung des pH-Wertes, der Temperatur, der Konzentration der Reagenten und der Verwendung von freiem und gebundenem Chlor als Oxydationsmittel. Die Ergebnisse zeigen, daß die Virusinaktivierung durch Chlor nicht auf eine spezielle viruzide Eigenschaft zurückzuführen ist, sondern auf dem ausgeübten Oxydationseffekt beruht. Die erreichte Inaktivierung ist alleine von der Höhe des erzielten Redoxpotentials und seiner Erhaltung über bestimmte Zeit abhängig.

Schwierigkeiten, die sich bei der Wasserdeseinfektion besonders von Oberflächengewässern ergeben, lassen sich in der Regel auf die wechselnde Wasserbeschaffenheit zurückführen, die eine unterschiedliche Zehrung des Oxydationsmittels verursacht und so das Redoxpotential verändert (CARLSON, 1970). Diese Beobachtung bestätigen auch THRAENHART und KUWERT (1975) für das Oxydationsmittel Ozon.

Tabelle 12: Wirksamkeit des Redoxpotentials auf die Inaktivierung von Viren in Wasser

Virusart	Redox- potential mV	Anfangs- potential mV	Inakti- vierung %	Zeit (Min.)	Bemer- kung	Autoren
Adeno Typ 7	+530		90	6,0	A,B	LUND, 1966
	+530		90	2,5	A,B	
	+500		90	15,0	A,C	
	+470		90	5,0	A,C	
	+470		90	30,0	A,D	
	+470		90	8,0	A,D	
Polio Typ 3	+200	+210	0	20,0	E,F,K	LUND, 1961
		+210	90	168h	E,F,K	
	+175	+430	0	1,0	E,G,K	
		+430	90	168h	E,G,K	
		+600	90	20,0	E,H,K	
	+185	+600	99	168h	E,H,K	
	+220	+380	90-99	48h	E,G,L	
		+380	99	168h	E,G,L	
	+200	+210	90	1h	M,K	
	+200	+200	90	24h	M,K	
	+300	+350	90	1h	N,K	
	+300	+350	90	24h	L,M	
	+230	+350	90	24h	N,K	
	+410	+450	99,999	24h	L,N	

Erläuterungen siehe Seite 66

Polio Typ 3	-250 bis +200 +300 +350 +400 +400 +500	LUND, 1961			
		90 90-99 99,9 90 99,99 99,99 90	7d 7d 7d 2h 48h 2h 7d	J	

Erläuterungen: Alle Versuche wurden bei 37°C und pH=7 durchgeführt.

- A = Potential eingestellt mit Chloreamin T
 B = Konzentration des Chloreamin T: 10^{-3} ; Restchlor 157mg/l
 C = Konzentration des Chloreamin T: $0,2 \cdot 10^{-3}$; Restchlor 36mg/l
 D = Konzentration des Chloreamin T: 10^{-4} ; Restchlor 15mg/l
 E = Potential eingestellt mit freiem Chlor
 F = Gehalt an freiem Chlor: Null
 G = Gehalt an freiem Chlor: 0,5mg/l
 H = Gehalt an freiem Chlor: 10mg/l
 J = Vergleichswert in reinem Phosphatpuffer
 K = Rohe Virussuspension
 L = Dialysierte Virussuspension
 M = Potential eingestellt mit 10mg/l Chloreamin T
 N = Potential eingestellt mit 100mg/l Chloreamin T
 d = Tage
 h = Stunden

2.5.1.6. Ultraviolette Strahlung

Ultraviolettes Licht hat eine Wellenlänge von 240-280nm, die günstigste Wellenlänge für die technische UV-Entkeimung liegt bei 253,7nm. UV-Licht bietet den Vorteil, daß die organoleptischen Eigenschaften des Wassers in keiner Weise ungünstig beeinflußt werden. Auch werden dem Wasser keine Fremdstoffe irgendwelcher Art zugeführt. Trotzdem hat sich die UV-Entkeimung im großen Rahmen für das Trinkwasser nicht durchgesetzt, denn den wenigen Vorteilen stehen eine Reihe von Nachteilen gegenüber.

Die Wirkung des UV-Lichtes ist auf die Wasseroberfläche beschränkt. Auch in klarem, farblosem Wasser kann es nur in geringe Tiefen eindringen. Wasser, welches nicht klar und farblos ist, reduziert die entkeimende Wirkung. Eine Abnahme der Lichttransmission von 90% auf 75% wirkt sich in einer Abnahme der Desinfektionsleistung von 99% auf 97,5% bis 88% aus, je nach Art der Trübung (MÜLLER, 1974).

Keime, die sich in Schmutzteilchen befinden, werden von der Strahlung nicht erfasst. Schliesslich behindert die Bildung von Schlamm oder anderen lichtundurchlässigen Belägen die Wirkung der Strahlungsquelle. Dadurch entstehen nicht zuletzt hohe Wartungskosten. Aus diesen Gründen fordert MÜLLER (1974), daß der Einsatz einer UV-Lichtquelle nur unter der Voraussetzung erfolgen sollte, wenn die folgenden Bedingungen erfüllt sind:

1. Das Wasser muß klar und farblos sein
2. Die Wasserzusammensetzung muß konstant sein
3. Das Wasser muß die einwirkende Strahlung in bestimmter, konstanter Schichtdicke passieren
4. Im gesamten Durchflubereich muß die pro Durchflubeinheit erforderliche UV-Bestrahlungsstärke (UV-Dosisleistung) vorhanden sein.

HILL und Mitarbeiter (1967) untersuchten die Wirkung von UV-Licht auf Enteroviren (Poliomyelitis Typ 1) in trübem Meerwasser. Die Wasserhöhe, auf welche die Lichtquelle einwirkte,

betrug 0,6cm, der Virusausgangsgehalt $5 \cdot 10^3$ PBE/ml :

Tabelle 13:

Trübung ppm	Durchfluß l/min	Inaktivierung %	Bemerkung
70	5-10	Virus n.n.	} Salzgehalt des Meerwassers : 2,09-2,64%
70	15-25	99,81-99,98	
240	5-25	96,80-99,98	

n.n. = Nicht nachweisbar

In einer anderen Versuchsreihe konnten HILL und Mitarbeiter (1969, 1970, 1971) sieben verschiedene Enteroviren und ein REO-Virus in Meerwasser innerhalb von 15-25 Sekunden zu 99% inaktivieren. Die Intensität der Lichtquelle betrug in diesem Fall $1,16 \cdot 10^{-5}$ J/mm²/sek.

2.5.1.7. Gamma-Strahlung

Die Sterilisierung von Trinkwasser mittels Gamma-Bestrahlung ist eine saubere und sehr wirksame Methode. Die physikalische Wirkung dieser Strahlen beruht auf der Auslösung ionisierender Vorgänge. Dabei kommt es zu keinerlei Rückständen im Wasser. Als Strahlungsquelle dient in den meisten Fällen das Cobalt-60 Isotop. Für die Zukunft ist vorgesehen, Abfälle des Reaktormülls als Strahlungsquelle zu nützen. In verschiedenen Kernforschungszentren wird z.Z. an der Nutzbarmachung der hochaktiven Spaltstoffrückstände von Kernreaktoren zum Einsatz in solchen Anlagen gearbeitet (MÜTSCH und SÜSS, 1973). SULLIVAN und Mitarbeiter (1971) untersuchten vier verschiedene Virusarten auf ihre Inaktivierung unter Einwirkung von Gamma-Strahlen. Die Ergebnisse zeigen, daß für die Inaktivierung von Viren in destilliertem Wasser eine ca. um den Faktor 3 geringere Strahlungs-dosis notwendig ist als bei Virusmaterial, das sich in Eagle' s MEM-Medium mit 2% fetalem Kälberserum befindet. Die Versuchsbedingungen waren wie folgt:

Virusausgangsgehalt ca. 10^4 PBE/ml; Temperatur $0,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$; bestrahlte Suspensionsmenge 1,2ml; Medium: Destilliertes Wasser; D-Wert=Die notwendige Dosis an Gamma-Strahlung, um 90% der Viruspopulation zu vernichten.

Tabelle 14:

Virusart	D-Wert (Mrad)
Coxsackie A9	0,12
Coxsackie 82	0,14
ECHO Typ 11	0,14
Influenza A	0,10
Polio Typ 3	0,11

RJABGENKO und LOVCEVIC (1965) veröffentlichten Versuchsergebnisse, wonach Poliomyelitisvirus (Typ 1) und ECHO-Virus (Typ 7) gegenüber der Gamma-Bestrahlung resistenter sind als E.coli . Zur Inaktivierung war die 2-3fache Dosis notwendig.

2.5.1.8. Silber und Kupfer

Die Verwendung von Silber und Kupfer als Desinfektionsmittel beruht auf der keimhemmenden Wirkung der Atome dieser Metalle, der sogenannten oligodynamischen Wirkung.

Silber verleiht dem Trinkwasser eine langanhaltende keimhemmende Wirkung; nachteilig ist die Tatsache, daß die volle keimhemmende Wirkung erst nach mehreren Stunden Einwirkungszeit eintritt und das Wasser rein und organisch nicht belastet sein muß (HÖLL, 1970; MÜLLER, 1974). Deshalb müssen Speicheranlagen vorhanden sein, bevor das Wasser in das Ortsnetz eintritt, um die notwendige Einwirkungszeit zu garantieren. Silber bietet sich aus diesem Grunde für die Wasserdesinfektion von Tanks an. Silber verleiht dem Wasser keinen nachteiligen Geschmack.

GRIGOREVA (1967) untersuchte die Wirkung von Silber auf Viren.

Sie fand unter anderem, daß die entkeimende Wirkung des Silbers geringer war, wenn gleichzeitig stäbchenförmige Darmkeime vorhanden waren. Letztere sind gegenüber Silber empfindlicher als Coxsackieviren und Bakteriophagen.

Kupfer JORDAN und NASSAR (1971) untersuchten die Haltbarkeit des Virus der Infektiösen Bronchitis der Hühner (Myxovirus) in Wässern mit verschiedenem Kupfergehalt und fanden eine klare Abhängigkeit (vgl. Tabelle 15). Die Filtration durch EKS-Filter entfernte das Kupfer aus dem Wasser; der Mechanismus dieses Vorgangs ist nicht ganz geklärt. Entweder wurde das in Lösung vorliegende Kupfer durch Ionenaustausch eliminiert oder als Kupferkarbonat an die Filter adsorbiert. Durch die Zugabe von 0,1% Sahne (Belastung mit organischen Substanzen) stieg die Überlebenszeit in allen Versuchen auf über sechs Stunden.

Tabelle 15: Wirksamkeit von Silber und Kupfer bei der Wasserdesinfektion

Virusart	Konzentration mg/l	Inaktivierung %	Zeit	Temperatur °C	Bemerkung	Autoren
Coxsackie AS / A14	0,2-0,5 Ag	0	6h	4		
	0,2-0,5 Ag	0	6h	17-18		
	0,2-5,0 Ag	Virus n.n.	2-8d	37	A	
	0,2-5,0 Ag	Virus n.n.	3-10d	37	B	GRIGOREVA, 1967
Bakteriophagen	0,2-0,5 Ag	Virus n.n.	1-3d	18-37		
IBR-Virus	0,20 Cu	Virus n.n.	2h			
	0,02 Cu	Virus n.n.	6h		C	JORDAN und NASSAR, 1971
	0,02 Cu	Virus n.n.	6h		C,D	
	0,15 Cu	Virus n.n.	2h			

Erläuterungen: Ag = Silber

Cu = Kupfer

h = Stunden

d = Tage

n.n. = Virus nicht nachweisbar

A = Wasser frei von Mikroflora

B = In Anwesenheit von stäbchenförmigen Darmkeimen

C = Wasser steril filtriert

D = Kupfergehalt erreicht durch Zugabe von Kupfersulfatlösung

2.5.2. Fällungs- und Adsorptionsverfahren

Beim Studium der verfügbaren Literatur fällt auf, daß verschiedene Begriffe (Flockung, Flocculation usw.) benützt werden, ohne daß eine Abgrenzung untereinander vorgenommen wird. Deshalb erscheint eine Begriffsbestimmung notwendig. Nach KÖHLER (1975) und VOGEL (1971) ergeben sich folgende Definitionen:

Fällung ist die Überführung echt gelöster Stoffe im Wasser in eine unlösliche Form, z.B. die Ausfällung von Kalk aus hartem Wasser.

Unter Flockung versteht man die Überführung von feinst-suspendierten oder kolloidal-gelösten Stoffen in einen Zustand, in welchem sie durch mechanische Verfahren vom Wasser abgetrennt werden können. Die auszuflockenden Partikel sind (in der Regel negativ) elektrostatisch aufgeladen. Diese gleichsinnige elektrische Ladung verhindert eine gegenseitige Berührung der Teilchen. Um eine Flockung von Kolloiden erreichen zu können, müssen entweder die zwischen den Kolloiden wirkenden Kräfte durch entsprechende Maßnahmen herabgesetzt werden oder durch chemische Reaktionen überlagert werden. Dazu dienen die Koagulation, die Adsorptionskoagulation und die Flocculation.

Bei der Koagulation wird das elektrische Potential der Kolloide durch Zusatz von entgegengesetzt geladenen Ionen zum Wasser entladen.

Mit Hilfe der Adsorptionskoagulation werden die geladenen Kolloidteilchen durch hydrolysierende, positiv-geladene Ionen von Metallsalzen entladen. Dabei verlieren letztere ihre Wasserlöslichkeit und es entstehen mehrkernige Metallkomplexe.

Für die Flocculation spielt die Kolloidentladung eine untergeordnete Rolle. Hier werden die Kolloidteilchen der Wasserinhaltsstoffe durch chemische Brückenbildung miteinander verbunden. Solche chemischen Stoffe sind von hochmolekularer Natur und besitzen viele ionisierbare Stellen am Molekül. Sie sind als Polyelektrolyte oder Flockungshilfsmittel bekannt.

2.5.2.1. Aluminiumverbindungen

Die Koagulation und die Wasserenthärtung sind nach der Wasserdesinfektion wahrscheinlich die wirkungsvollsten chemischen Maßnahmen zur Viruseliminierung (BERG, 1973). Sie lassen sich aber insofern nicht mit Desinfektionsverfahren vergleichen, als die Infektiosität des Virus durch die Flockungsmethoden nicht oder nicht nennenswert angegriffen wird. Das Virus wird vielmehr nur aus dem Wasser entfernt.

Die Flockung mit Aluminiumsulfat geht in einer zweiphasigen Reaktion vor sich. Zuerst bildet sich ein Komplex aus dem Aluminium-Ion und dem Virus, dann kommt es zur Aggregation dieser Komplexe und zur Sedimentation der Flocken.

Eine optimale Virusreduktion ist wesentlich abhängig von einer guten Flockenbildung. Ältere Veröffentlichungen enthalten sehr unterschiedliche Versuchsergebnisse. Sehr gute Resultate der Viruseliminierung mit niedrigen Konzentrationen an Aluminiumsulfat stehen schlechten mit hohen Konzentrationen gegenüber. Dies zeigt, daß die Konzentration des Flockungsmittels alleine kein Maß für die Virusreduktion darstellt (BERG, 1965; CLARKE und CHANG, 1959). Letztere ist vielmehr abhängig von einer optimalen Flockenbildung. Die Bedingungen für eine adäquate Flockenbildung sind anspruchsvoll und werden in der Praxis oft nicht eingehalten. (BERG, 1965; CARLSON, 1965; CHANG und Mitarbeiter, 1958). Wesentliche Faktoren, die berücksichtigt werden müssen, sind der geeignete pH-Wert, die adäquate Konzentration des Koagulans, das Fehlen störender Substanzen, eine geeignete Durchmischung und die Temperatur. Eine Erniedrigung der Temperatur um 10°C erfordert eine verdoppelte Reaktionszeit der Flockung mit Aluminiumsulfat (HÜLL, 1970). Dagegen stellten CHANG und Mitarbeiter (1958) keine Abhängigkeit der Virusreduktion von der Versuchstemperatur ($5-25^{\circ}\text{C}$) fest. Aluminiumsulfat bewirkt eine pH-Erniedrigung im Wasser. Das pH-Optimum für die Flockung liegt bei 4,5-6,0 (HÜLL, 1970;

THORUP und NIXON, 1970).

CHAUDHURI und ENGELBRECHT (1970) konnten bei optimaler Koagulation 98-99,9% der Bakteriophagen T4 und MS2 aus dem Wasser entfernen. Sie berichteten ausserdem, daß die Wirkung durch kationische Polyelektrolyte noch gesteigert werden kann. Organische Wasserinhaltsstoffe stören dagegen die Flockenbildung. SHELTON und DREWEY (1973) fanden, daß die Flockung mit Aluminiumsulfat der mit Eisensalzen überlegen war, während THORUP und NIXON (1970) in etwa gleiche Ergebnisse mit beiden Substanzen erreichten. Sie erhielten mit Bakteriophagen T2 und Poliomyelitisviren (Typ 1, Sabin) folgende Zahlen:

Tabelle 16:

Virusart	Viruseliminierung	Al-sulfat	Bemerkung
Phage T2	56-58%	5mg/l	In Anwesenheit von 20mg/l Kationen (Ca,Mg,Na,K)
	98%	40mg/l	Bei 5mg/l Trübung durch Tonpartikel, pH=6,8-7,2
Polio Typ 1	12%	10mg/l	Mit 0,1m CaCl ₂ -Konzentration zur Einstellung der Ionenstärke, pH=6,8
	85%	10mg/l	Mit 0,1m CaCl ₂ -Konzentration zur Einstellung der Ionenstärke. Wasser tonhaltig.

Alle Versuche wurden in destilliertem Wasser durchgeführt.

CHANG und Mitarbeiter (1958) entfernten mit Aluminiumsulfat 99% von Coxsackieviren A2 aus Wasser mit einer Trübung von 260ppm. Flockten sie anschliessend mit Eisen-III-Chlorid nach, so erreichten sie sogar 99,6-99,9%, unabhängig von der angewandten Temperatur (5-25°C).

Kombiniert man die Aluminiumsulfatflockung mit der Natriumaluminatflockung, so lassen sich die Reduktionsergebnisse noch verbessern (SHELTON und DREWEY, 1973). Das pH-Optimum für Natriumaluminat liegt bei 7,5-8,5 (HÖLL, 1970).

2.5.2.2. Eisen-III-Verbindungen

Durch die Flockung mit Eisen-III-Chlorid (FeCl_3) und Eisen-III-Sulfat $\text{Fe}(\text{SO}_4)_3$ lassen sich der Aluminiumsulfatflockung ebenbürtige Ergebnisse erzielen. CHANG und Mitarbeiter (1958) fällten mit Eisen-III-Chlorid 92-94% von Coxsackieviren A2 aus Flußwasser. Bessere Ergebnisse erzielten MANWARING und Mitarbeiter (1971); bei einem Ausgangstiter von $3,9 \cdot 10^5$ PBE/ml Bakteriophagen MS2 konnten bis zu 99% aus dem Wasser entfernt werden:

Tabelle 17:

Virus- eliminierung %	$\text{Fe}(\text{Cl})_3$ mg/l	pH-Wert
94	20	5
98	40	5
99	60	5
70-80	20	7
92	40	7
96	60	7
86	60	8
94	80	8

Optimale Ergebnisse werden demzufolge bei 50-60mg/l FeCl_3 und bei pH=5 erzielt. Tiefere pH-Werte wurden in der Untersuchung nicht berücksichtigt. In weiteren Arbeiten der Autoren wurde auch der Einfluß von Calcium- und Magnesiumionen sowie von organischen Substanzen auf die viruseliminierende Effektivität der FeCl_3 -Flockung untersucht. Calcium- und Magnesiumionen hatten bis zu einer Konzentration von je 50mg/l keine Auswirkung (pH5,0-5,15, 60mg/l FeCl_3). Dagegen zeigte sich, daß bovines Serumalbumin bei 50mg/l die Eliminierungsquote auf 97,5% und Abwasser in einer Menge von 200ml/l auf 67,2% herabsetzte. Das Virus blieb in jedem Fall nach der Flockung infektiös.

Eine Abhängigkeit von der Trübung des Wassers ermittelten THORUP und NIXON (1970) bei der Flockung mit Eisen-III-Sulfat. Die Quote lag für destilliertes Wasser (pH=6,8) bei 20%, für tonhaltiges Wasser bei 85%. Verwendet wurde das Poliomyelitis-virus (Typ 1, Sabin) sowie als Koagulans 11,6mg/l $\text{Fe}(\text{SO}_4)_3$ bei

0,1m CaCl_2 -Konzentration zur Einstellung der Ionenstärke. Der Virusanfangsgehalt betrug $3-7 \cdot 10^4$ PBE/ml.

2.5.2.3. Wasserenthärtungs-Präzipitation

Die Wasserhärte wird wesentlich mitbestimmt von dem Gehalt an Calcium- und Magnesiumionen. Bei bestimmten Wässern mit großer Härte ist es notwendig, im Rahmen der Wasseraufbereitung eine Enthärtung vorzunehmen. Dies kann durch die Ausfällung von Calciumcarbonat oder Magnesiumhydroxid geschehen. Diese Präzipitationsvorgänge vermögen wegen der damit verbundenen Steigerung des pH-Wertes Viren zu inaktivieren.

Die umfangreichsten Untersuchungen auf dem Gebiet der Viruseliminierung durch die Wasserenthärtungsprozesse liegen von WENTWORTH und THORUP (1968) sowie von THAYER und SPROUL (1966) vor. In ausführlichen Einzelversuchen wurde das Verhalten der Bakteriophagen T2 und Poliomyelitisviren (Typ 1, Sabin) bei den verschiedenen möglichen Präzipitationsvorgängen untersucht.

Fällung von Calciumcarbonat: Der chemische Vorgang der Bildung des Carbonat-Ions wurde auf zweierlei Art erzielt: Einmal durch das Hinzufügen von Calciumhydroxid zu den Testlösungen, die verschiedenen Konzentrationen von Calciumhydrogencarbonat enthielten, zum anderen durch Natriumcarbonat zu Lösungen, die verschiedene Konzentrationen einer Nicht-Carbonathärte (z.B. in Form von NaCl) enthielten. Diese Vorgänge werden als "Straight Lime Softening" bzw. als "Straight Soda Ash Softening" bezeichnet.

Straight Lime Softening: Mit steigender Anfangshärte bzw. zunehmender Carbonatausfällung wurde eine Zunahme der Virusinaktivierung verzeichnet. Sie betrug bei 200-400mg/l Ausgangshärte (ausgedrückt in mg/l CaCO_3) für Polioviren 43-81%, bei 100-300mg/l für die Phagen 23-57%.

Straight Soda Ash Softening: Die Inaktivierungsquote betrug bei

100-300mg/l für die Phagen 70-98%.

Diese Versuche wurden auch mit fertigem CaCO_3 -Pulver (pH 8,2-8,8) vorgenommen, wobei die Inaktivierungsquote bei maximal 3,9% (Phagen) bzw. 19,5% (Polio) lag. Damit konnte nachgewiesen werden, daß die chemische Bildung des Calciumcarbonat in Anwesenheit des Virus notwendig ist, um einen deutlichen Abfall d des Virusgehalts zu erreichen.

Fällung von Magnesiumhydroxid: Diese erfolgte durch die Zugabe von Natronlauge zu Wasserproben mit verschiedenen Konzentrationen an Magnesiumchlorid, wobei ein pH-Endwert von 10,5-10,6 entstand. Damit konnte bei 100-300mg/l Anfangshärte bis zu 99,999% (Phagen) bzw. bei 100-500mg/l bis zu 99,92% (Polio) der Viren inaktiviert werden. Diese Methode ist in Hinsicht auf die Viruseliminierung bedeutend wirkungsvoller als die Carbonatfällung. Auch in diesem Fall konnten durch die Zugabe von vorgefertigtem $\text{Mg}(\text{OH})_2$, das einen pH-Wert von 9,8-10,4 besitzt, keine solch hohen Inaktivierungsraten erreicht werden; sie betrugen maximal 54% (Phagen) bzw. 42% (Polio). In Vorversuchen wurde ermittelt, daß Poliovirus unter dem pH-Wert von 11,2 über den Versuchszeitraum nicht inaktiviert wurde; für die Phagen ergaben sich: pH 7,0-9,2: keine Inaktivierung; pH 10,5: Inaktivierung 98%. In einem weiteren Versuch an Wässern mit Calcium- und Magnesiumhärte und einer gleichen Konzentration von Carbonat- und Nichtcarbonathärte ("Excess Lime-Soda Ash Softening") konnten schließlich über 99,95% (Phagen) bzw. bis zu 99,99% (Polio) der Viren inaktiviert werden.

Wesentlich für die Inaktivierung von Viren durch Wasserenthärtungsprozesse ist die Anwendung des optimalen Fällungsmittels. Der dabei entstehende hohe pH-Wert ist verantwortlich für die Virusinaktivierung. Es kommt wahrscheinlich zu einer Neutralisation von bestimmten Aminogruppen des Virusproteins. In keinem Fall konnte Virus durch Senken des pH-Wertes reaktiviert werden.

Nach SPROUL (1972) erfolgt die Virusinaktivierung unter alkalischen Bedingungen derart, daß der Proteinmantel denaturiert wird, das Virus "zerbricht". Bei sehr hohem pH-Wert kommt es zum vollständigen Verlust der Struktur.

2.5.2.4. Polyelektrolyte

Polyelektrolyte sind Makromoleküle mit eingebauten ionisierenden Bestandteilen, deren Ladung positiv (kationische Polyelektrolyte) oder negativ (anionische) oder beides ist. Polyelektrolytsubstanzen zur Wasseraufbereitung werden meist auf Polyakrylamidbasis hergestellt und sind als Flockungshilfsmittel bekannt.

Ausführliche Erhebungen über Polyelektrolyte als primäre Koagulantien und als Flockungshilfsmittel liegen von THORUP und NIXON (1970) vor. Wurden sie als primäre Koagulantien verwendet, so konnte im günstigsten Fall eine Reduzierung an Bakteriophagen T2 um 96% erreicht werden, allerdings nur mit kationischen Polyelektrolyten. Mit anionischen und nicht-ionischen lag der beste Wert bei 41%. Wurde eine Flockung mit Aluminiumsulfat durchgeführt, jedoch mit 5mg/l unterkoaguliert, so wurde wiederum nur mit kationischen Polyelektrolyten eine deutliche Verbesserung der Virusreduktion erzielt; sie betrug maximal 94%, mit Aluminiumsulfat alleine 58%. Insgesamt kommen die Autoren zu dem Ergebnis, daß bei korrekter Koagulation mit Aluminiumsulfat oder Eisen-III-Chlorid eine Steigerung der Viruseliminierung durch kationische Polyelektrolyte nur geringfügig möglich ist, mit anderen Polyelektrolyten überhaupt nicht. Dies wird auch durch CHAUDHURI und ENGELBRECHT (1970) bestätigt. Ihnen gelang im günstigsten Fall eine 99,9%ige Virusreduktion (Bakteriophagen T4 und MS2) mit Aluminiumsulfat und kationischen Polyelektrolyten.

SHELTON und DREWAY (1973) stimmen insofern mit anderen Autoren überein, als auch ihnen keine zufriedenstellende Virusreduktion mit Polyelektrolyten als primäre Koagulantien gelang; jedoch fanden sie die optimalen Werte bei der Anwendung von nicht-ionischen Polyelektrolyten.

2.5.2.5. Kohleadsorption

Eine Viruseliminierung aus Wasser mittels Aktivkohle oder Kohlefilter hat keine große Bedeutung. COOKSON (1967, 1969) sowie COOKSON und NORTH (1967) konnten 35% des eingesäten E.coli-Phagen T4 bei einem Wasserdurchfluß von 19 Liter/Minute/ m^2 mit Kohlefiltern entfernen. Das pH-Optimum lag dabei um den Neutralpunkt. Der Wirkungsmechanismus beruht wahrscheinlich auf einer Adsorption der Aminogruppen des Virus an die Carboxylgruppen der Kohle durch elektrostatische Anziehungskräfte. OZA und CHAUDHURI (1975) erreichten für das gleiche Virus 70% Adsorption bei einem pH-Wert von 8 und einem Virusanfangsgehalt von ca. 10^4 PBE/ml. Eiweißhaltige Wasserinhaltsstoffe konnten diesen Wert allerdings auf 12% reduzieren.

Mit einer Kombination von Flockung und Aktivkohle entfernten NEEFE und Mitarbeiter (1947) ca. 40% des Hepatitis-Antigens. Da die Flockung als die wirkungsvollere Methode angesehen werden muß, ist es wahrscheinlich, daß nur ein geringfügiger Prozentsatz des Antigens an die Kohle adsorbiert wurde.

2.5.3. Filtrationsmethoden

2.5.3.1. Sandfiltration

Die Sandfiltration, einer der wichtigsten Wasserreinigungsprozesse im Naturhaushalt, ist auch heute noch ein sehr wesentlicher Faktor bei der Aufbereitung größerer Wassermengen aus Oberflächengewässern, speziell von Flußwässern in dicht besiedelten Gebieten.

Sandfilter sind als Langsamfilter mit Filterdurchflüssen von maximal ca. 1,2 Liter/Minute/m² oder als Schnellfilter (1,3 Liter/Minute/m² oder mehr) in Gebrauch. Folgende Faktoren spielen bei der viruseliminierenden Wirkung von Sandfiltern mit unterschiedlicher Bedeutung eine Rolle (HÜLL, 1970; ROBECK und Mitarbeiter, 1962; YOUNG und BURBANK, 1973):

- x) Zusammensetzung der Körnung (mechanische Siebwirkung)
- x) Chemische Umsetzungen (Austausch von Kationen)
- x) Durchflußgeschwindigkeit
- x) Adsorptive Vorgänge

Nach übereinstimmenden Literaturangaben ist der Adsorption von Viruspartikeln die größte Rolle zuzumessen. Verschiedene Parameter können die Adsorption im Boden beeinflussen. Zu ihnen gehört die Temperatur und der pH-Wert. Die Temperatur spielt eine untergeordnete Rolle, denn sie unterliegt mit zunehmender Bodentiefe geringeren Schwankungen. Die mittlere Jahrestemperatur beträgt in 10 Meter Tiefe in Europa 9,5°C (HÜLL, 1970).

Abnehmende Konzentrationen von Wasserstoffionen verursachen hingegen eine Abnahme der Ionisation der Hydroxylgruppen. Dadurch verhält sich das Virion wie ein Anion, denn jedes Viruspartikel hat durch sein Protein amphoteren Charakter. Da der Boden selbst überwiegend negative Ladung aufweist, kommt es zur Adsorption (CARLSON und Mitarbeiter, 1968; CARLSON und Mitarbeiter, 1972; DREWRY und ELIASSEN, 1968; YOUNG und BURBANK, 1973). In diesem Zusammenhang ist es von Be-

deutung, daß eine Adsorption bei reinem Wasser und in sauberem Sand nicht erfolgt. Erst beim Vorliegen von organischen Bestandteilen, die im Filter zurückgehalten wurden, kommt es zu einer Virusadsorption (BERG und Mitarbeiter, 1970; ROBECK und Mitarbeiter, 1962; SPROUL, 1972).

Wichtiger als die Sandart für die Virusretention im Boden ist die Durchflußgeschwindigkeit. ROBECK und Mitarbeiter (1962) zeigten, daß sich grobe Sandarten nur bei der Schnellfiltration negativ auf die Viruseliminierung auswirkten. CLARKE und CHANG (1959), GILCREAS und KELLY (1955) sowie THRAENHART und KUWERT (1975) stellten ausserdem fest, daß die Sandschnellfiltration im Hinblick auf die Virusretention relativ uneffektiv ist:

Tabelle 18:

Virusart	Durchfluß- geschwindigkeit	Virus- reduktion
Coxsackie A5	7,5 l/Min/m ² 75 l/Min/m ²	99% 10%
Polio Typ 1	0,6-1,2 l/Min/m ² 38-76 l/Min/m ²	50-98% 10-70%

Die Fließgeschwindigkeit von Grundwasser mit unter 0,5 l/Min/m² sowie Sandlangsamfilter ermöglichen eine hohe Rate der Virusreduktion; THRAENHART und KUWERT (1975) stellten fest, daß damit über 93% der im Rohabwasser vorhandenen Enteroviren zurückgehalten wurden. Somit kommen Sandfiltern eine erhebliche Bedeutung in virologisch-hygienischer Sicht zu.

CARLSON und Mitarbeiter untersuchten den Einfluß anionischer Tenside (Detergentien) auf die Eindringtiefe von Viren und Bakteriophagen im Boden. Da die Adsorptionswirkung des Bodens u.a. entscheidend abhängig ist vom pH-Wert und der Kationenkonzentration, ist eine nachteilige Wirkung von Detergentien auf Sandfilter denkbar. Die Autoren stellten aber bei Konzentrationen bis zu 6mg/l Tenside keine Beeinflussung der Bodenfilterwirkung fest. Bei höheren Konzentrationen drangen die Viren weiter in den Boden vor (bei 10mg/l Tenside bis zu 65cm,

ohne Detergentienbelastung 25cm), jedoch gelang es experimentell nicht, Theilerviren tiefer als 90cm in den Boden einzuschwemmen. Die Überlebensdauer der Theilerviren im Boden betrug vier Wochen, die von Bakteriophagen zwei Wochen. Die Anfangskonzentration der Virussuspensionen betrug $3,5 \cdot 10^3$ /ml in verdünntem Abwasser.

2.5.3.2. Seitz-Filter

HECHMAT (1972) sowie SPROCKHOFF und WAITZ (1965) untersuchten, inwieweit eine Virusreduktion mit Seitz-Entkeimungsschichten möglich ist. Seitz-Filter bestehen aus einer Mischung von Zellulosefasern mit unterschiedlichem Anteil von fein-fibrilliertem Asbest; ihre Wirkung ist primär die einer Adsorption, die Siebwirkung spielt eine untergeordnete Rolle. HECHMAT (1972) stellte in seinen Versuchen mit Poliomyelitisviren (Typ II) in Brunnen- und Rheinwasser fest, daß die verwendeten Filter früher mechanisch verlegt waren als ihre maximale Adsorptionsfähigkeit erreicht war, ausser bei schwebstoffarmem und sehr virusreichem Wasser. EKS-Filter sind zwar grundsätzlich für Viren durchgängig, jedoch ist die Verzögerung, mit der dieses Ereignis eintritt, groß genug, um im Notfall einwandfreies Wasser zu liefern.

SPROCKHOFF und WAITZ (1965) fanden, daß Seitz-Entkeimungsschichten ca. um den Faktor 100 mehr Newcastle Disease Virus zurückhielt als E.coli-Phagen T3. Je nach Filtersorte lag die Belastbarkeit für das ND-Virus bei $1,8-2,5 \cdot 10^{10}$ Einheiten/cm², für die Phagen bei $1,0-2,0 \cdot 10^8$ Einheiten/cm². Die Ursache für die unterschiedliche Belastbarkeit dürfte in der Größe der Viruspartikel zu suchen sein (ND-Virus 120-180µ, T3-Phagen ca. 50µ).

2.5.3.3. Kieselgurfilter

Die Virusentfernung aus dem Wasser mittels Kieselgurfiltern ist möglich, eine Virusreduktion von über 99% innerhalb von zwei Stunden gelingt jedoch nur mit bestimmten Filtersorten oder unter Zuhilfenahme von Polyelektrolyten. Darüberhinaus ist zur Erzielung optimaler Ergebnisse eine pH-Einstellung auf 6,25 (für das Versuchsobjekt Bakteriophage T2) notwendig, insbesondere bei der Verwendung von gechlorten Wässern. Anorganische Koagulantien, die mit der Zeit einen Überzug über das Filter bilden können, beeinflussen die Viruseliminierung negativ. Der Hauptmechanismus der Kieselgurfilter liegt in ihrer Filtrationswirkung, die Adsorption von Mikropartikeln spielt eine untergeordnete Rolle (BROWN und Mitarbeiter, 1974).

2.5.4. Wasserspeicherung

Die lange Speicherung von Wasser ist eine einfache Methode, um Viren zu inaktivieren. Je höher die dabei vorherrschende Wassertemperatur ist, umso schneller tritt eine Virusinaktivierung ein (vgl. Kapitel 2.4.). Eine Trinkwasserspeicherung ohne die Anwendung höherer Temperaturen kann allenfalls zu einer Virusreduzierung führen (BERG, 1966). Infolge der langen Haltbarkeit einiger Virusarten erfordert dieses Verfahren große Lagerkapazitäten. Damit ist seine Wirtschaftlichkeit in Frage gestellt. In diesem Zusammenhang ist es auch von Bedeutung, daß die Inaktivierung von Viren in sauberen Wässern besonders langsam vonstatten geht (CLARKE und CHANG, 1959). Die Speicherung von Trinkwasser kann auch deshalb zu einer Virusreduzierung führen, weil Schmutzpartikel sedimentieren, an die Viren adsorbiert sind.

2.5.5. Hitzebehandlung

Es entspricht den Grundlagen eines chemischen Prozesses, daß höhere Temperaturen schnellere Virusinaktivierungen bewirken. Jedes Wasser läßt sich durch Abkochen virusfrei machen. Trotzdem hat sich die Hitzebehandlung von Trinkwasser zum Zwecke der Virusinaktivierung nur in kleinem Rahmen und in Notfällen durchgesetzt. Für die großtechnische Anwendung scheint das Verfahren nicht geeignet zu sein. Alleine die Carbonatausfällung bei höheren Temperaturen wirft technische Probleme auf.

Die Hitzebehandlung ist ein wirksames und absolut zuverlässiges Mittel zur Virusinaktivierung. Folgende Ergebnisse zeigen die Wirksamkeit einer Hitzebehandlung gegenüber Enteroviren (CLARKE und CHANG, 1959):

Tabelle 19:

Virusart	Virus- inaktivierung	Temperatur/Zeit
Polio- und Theilervirus	Virus n.n.	55°C/15-30Sek. bzw. 71°C/7,5 Sek.
Coxsackie A1/ A4/B1	Virus n.n.	55°C/10-15 Min. bzw. 71°C/10Sek.

Erläuterung: n.n.= nicht nachweisbar

Eine ausführliche Zusammenstellung der Literatur auf dem Gebiet der Thermostabilität/-labilität findet sich bei HENNEMANN (1968).

2.5.6. Kombinierte Verfahren

Die Kombination verschiedener Wasseraufbereitungsverfahren bewirkt in der Regel eine sehr gute Viruseliminierung. FOLIGUET und DONCOEUR (1974) konnten nach 70 Minuten im Ausfluß einer

Wasseraufbereitungsanlage kein Poliomyelitisvirus (Typ 1) mehr nachweisen; das Wasser war nach einer Vorchlorung mit Eisen-III-chlorid koaguliert und anschliessend der Schnellfiltration unterzogen worden.

ROBECK und Mitarbeiter (1962) benützten Schnellfilter (2-6 US-Gallonen/Minute/feet²) mit nachfolgender Aluminiumsulfatflockung. Die Reduktion des Poliomyelitisvirus (Typ 1, Mahoney) betrug über 99,7%, während mit Schnellfiltern alleine im günstigsten Fall unter den gleichen Bedingungen 50% Reduktion erreicht werden konnte.

In einer von PRIMAVESI (1970) gewählten Aufbereitungssequenz liessen sich ebenfalls keine Viren mehr nachweisen (ECHO Typ 11, Coxsackie B1/B3/B4/B5, Polio Typ 1/2). Als Flockungsmittel dienten 10-30mg/l Aluminiumsulfat mit 2-3mg/l aktivierter Kieselsäure und 5-15mg/l Kalkhydrat. Dazu wurde gleichzeitig 5-30mg/l freies Chlor mit einer Einwirkungszeit von 1-2 Stunden gegeben. Einer anschliessenden Filtration mit Kies- und Kohlefiltern (um das Wasser von Flocken und Chlor zu befreien) sowie mit einem Langsamfilter folgte nach einer Bodenpassage eine nochmalige Sicherheitschlorung von 0,3-0,5mg/l.

Ein in virologischer Sicht einwandfreies Wasser läßt sich durch das sogenannte Berkefeldt-Verfahren zur Wasseraufbereitung erzielen (MAYR, 1974). Nach einer anfänglichen Hochchlorung über 60-75 Minuten und einer Aktivkohlepassage (30 Minuten) kommt es mit Calciumhydroxid zu einer Enthärtungspräzipitation. Nach anschliessender Sedimentation und Filtration wird mit 1,4-7,0mg/l über 30 Minuten nachgechlort. In dem so gewonnenen Trinkwasser ist kein Virus nachweisbar.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. MATERIAL UND METHODEN

3.1.1. Wasserarten

Für die Versuche kamen sechs verschiedene Wasserarten zur Anwendung. Es wurde Wert darauf gelegt, nach Möglichkeit solche Wasserarten zu verwenden, deren Zusammensetzung obere und untere Werte innerhalb der Grenzen aufwies, die bei durchschnittlichen Trink- und Oberflächenwässern anzutreffen sind. Wasser Eschenlohe Es handelt sich um Wasser aus einer der Quellen, die bei Eschenlohe/Oberbayern entspringen. Das Wasser hat einen mittleren pH-Wert von 7,3 und weist mit 32°dH sehr große Nichtkarbonathärte auf. Es enthält 560-580 mg SO₄-Ionen pro Liter, während die Karbonathärte etwa der des Isar- und Tegernseewassers entspricht. Das Wasser Eschenlohe besitzt deshalb die höchste elektrische Leitfähigkeit aller untersuchten Wässer (Anhaltswert für die Menge der im Wasser vorkommenden Salze).

Wasser Isar Das Isarwasser wurde als Vertreter eines Flußwassers benützt. Seine Härte liegt bei 10,3°dH, sein pH-Wert bei 8,0. Dieses Wasser weist den höchsten Verbrauch an Kaliumpermanganat unter den ausgewählten Wässern auf (Indikator für organische Verunreinigungen), jedoch liegen die Werte noch innerhalb der Grenzen, die für "reines" Wasser gelten. Die Analysenwerte stammen aus einer Wasseruntersuchung, die im Dezember 1974 von den Stadtwerken München/Abteilung Wasserwerke durchgeführt wurde. Geringe Schwankungen der Werte sind möglich; erfahrungsgemäß bewegen sie sich aber innerhalb sehr kleiner Grenzen (ALEXANDER, 1974).

Wasser München Das Wasser wurde der Leitung entnommen und durch die Stadtwerke München/Abteilung Wasserwerke analysiert. Das Münchner Trinkwasser ist ein reines Grundwasser und weist mittlere Werte bei Gesamthärte und pH-Wert auf.

Wasser Tegernsee Dieses Wasser diente als Vertreter eines Seewassers. Die Wasserprobe wurde am Ausfluß der Mangfall aus dem Tegernsee entnommen; die Analysenwerte gelten für die gleiche Stelle. Die Härte des Tegernseewassers entspricht der des Isarwassers, der pH-Wert liegt geringfügig höher.

Wasser Wahnbach Das durch die Wahnachtalsperre gestaute Wasser, welches einen Teil der Trinkwasserversorgung der Stadt Bonn stellt, ist ein echtes Oberflächenwasser. Es besitzt einen hohen pH-Wert von 8,6 und ist das weichste der verwendeten Wässer (4,4⁰dH Gesamthärte).

Wasser Wiesbaden Zur Verwendung gelangte das Trinkwasser der Stadt Wiesbaden, welches ein reines Uferfiltrat darstellt. Die Wasserinhaltswerte sind mit denen des Trinkwassers München vergleichbar.

Genaue Analysenwerte sind der Tabelle zu entnehmen.

Alle Wasserproben wurden mittels Seitz-Entkeimungsfiltern steril filtriert, in Flaschen von 1 Liter Fassungsvermögen abgefüllt und bei +4⁰C bis zur Verwendung gelagert. Alle Wasserproben wurden vor ihrer Verwendung auf Sterilität überprüft.

Tabelle 20:

Wichtige chemische und physikalische Wasserbefunde

Wasserprobe	Eschen-lohe	Isar	München	Tegern-see	Wahnbach-tal	Wies-baden
Entnahmestelle	Quelle 2	Schäft-larn	Leitung	Mangfall (Gmund)	Hochbe-hälter TA Probe 6	Werk Schier-stein
Entnahmedatum	14.08.74	27.07.74	26.06.74	09.09.74	29.05.74	01.07.74
Temperatur °C	10,4		10,2	16,7	7,5	11,8
pH-Wert	7,3	8,06	7,52	8,3	8,64	7,37
Gesamthärte °dH	42,3	10,3	16,0	10,2	4,40	15,65
Karbonathärte °dH	9,8	9,0	14,8	8,3	1,8	14,3
Bleibende Härte °dH	32,5	1,3	1,2	1,9	2,6	1,35
Freier Sauerstoff	3,2	12,0	11,0	10,6	11,0	7,1
Biochemischer Sauerstoffbedarf	0,3	2,3	40,6	2,1		
Gebundene Kohlensäure	77,0	70,8	116,6	64,9	14,1	
Freie Kohlensäure	17,6	1,5	19,8		nn	28,6
Aggressive Kohlensäure	0	0	0		nn	nn
Abdampfdruck-stand (105°C)	1124	216,5	309	216	167	344
Glührückstand (500°C)	960	180	249,5	187	131	221

Erläuterungen siehe Seite 89

Fortsetzung Tabelle 2a

Glühverlust (500°C)	164	36,5	59,5	29	34	123
KMnO ₄ -Verbrauch	1,9	17,1	0,8	7,3	3,3	4,1
Calcium (Ca ⁺⁺)	305,8	75,1	79,0		24,0	123,2
Magnesium (Mg ⁺⁺)	84,0	20,4	21,8		4,9	24,1
Eisen (Fe)	<0,001	0,1	0,01		0,01	0,06
Mangan (Mn ⁺⁺)	nn	0	0,01		0,01	nn
Kalium (K ⁺)	0,6	0,8	0,95	0,9		
Natrium (Na ⁺)	4,6	2,3	2,8	2,7		
Ammoniumver- bindungen (NH ₄ ⁺)	nn	nn	nn	nn	0,07	0,03
Chlorid (Cl ⁻)	3,9	2,3	5,3	2,1	17,0	16,0
Nitrat (NO ₃ ⁻)	1,7	3,8	5,9	1,3	13,5	Spuren
Nitrit (NO ₂ ⁻)	nn	nn	nn	nn	0,01	nn
Gesamphosphat (PO ₄ ⁻⁻⁻)	0,001	0,14	0,001	0,04	0,02	0,23
Sulfat (SO ₄ ⁻⁻⁻)	586	14,3	18,0			
Kieselsäure (SiO ₂)	3,6	3,5	4,0		3,4	15,6
Spezifische Leitfähigkeit (µS/cm)	1065		458	282	188	478
Bemerkung		reichlich Plankton				

Erläuterungen: nn = nicht nachweisbar
 < = weniger als
 + = ungefähre Wert
 Alle Werte in mg/l, wenn nicht anders angegeben

3.1.2. Testviren und Viruszüchtung

Die Prüfung ihrer Haltbarkeit im Wasser wurde mit fünf verschiedenen repräsentativen Virusarten durchgeführt. In die Auswahl fielen je ein behülltes und unbehülltes (nacktes) DNS- bzw. RNS-Virus sowie ein Pockenvirus mit komplexem Aufbau. Aujeszký-Virus (AU) Stamm Hannover II. Ausgangsmaterial war Virus der 3. Kulturpassage in Kulturen aus embryonalen Hühnerfibroblasten (FHE). Die Stammvirussuspension - über die Vermehrung des Virus in einer Kaninchennieren-Zelllinie (RK₁₃) gewonnen - erreichte einen Titer von $10^{-7,75}$ KID₅₀/ml. Die Testvirussuspensionen wurden auf folgende Weise gewonnen: Nachdem die Zellkulturen in Roux-Flaschen zum dichten Rasen ausgewachsen waren, wurde das Anzuchtmedium durch Erhaltungsmedium ersetzt, die Zellkultur mit 0,5ml Virusmaterial infiziert und bei 37°C weiter bebrütet. Nach zwei bis drei Tagen zeigte die Kultur zu 80-90% cytopathischen Effekt. Sie wurde jetzt kurz bei -70°C eingefroren, wieder aufgetaut, und aus der Virusernte der Zelldetritus über 10 Minuten bei 3000 UpM abzentrifugiert. Der Überstand (Virusphase) bildete die Stammvirussuspension.

HCC-Virus (HCC) Stamm Behring. Virus der 5. Kulturpassage wurde in Hundenierenzellen (Zelllinie MDCK) vermehrt und erreichte einen Virustiter von $10^{-8,0}$ KID₅₀/ml. Die Aufbereitung der Kulturvirusernte erfolgte in der für das Aujeszký-Virus beschriebenen Weise.

Newcastle-Disease-Virus (ND-Virus) Stamm California. Das Virus wurde durch Infektion über die Allantoishöhle in 10 Tage vorbebrüteten Hühnereiern vermehrt. Die Hühnerembryonen starben nach zwei bis drei Tagen ab. Als Virussuspension diente die gereinigte Allantoisflüssigkeit. Sie wurde durch kurzfristiges Gefrieren bei -70°C und nachfolgende Zentrifugation (10 Minuten, 3000 UpM) partiell gereinigt. Der Überstand erreichte einen Virustiter von $10^{-8,75}$ EID₅₀/ml und galt als Stammvirussuspension.

Teschen-Virus (T-Virus) Stamm Konratiče. Als Ausgangsmaterial zur Herstellung der Kulturvirussuspension diente Material der 6. Kulturpassage. Das Virus wurde in primären Schweinenierenkulturen vermehrt und erreichte einen Titer von $10^{-7,5}$ KID₅₀/ml. Die Aufbereitung der Kulturvirusernte erfolgte wie bereits beschrieben.

Vaccinia-Virus (VE-Virus) Stamm Elstree (WHO-Referenzstamm) Es lag als Material aus der 3. Passage in Hühnerembryofibroblasten(FHE)-Kulturen vor. Vermehrt wurde das Virus in Kaninchennieren-Zellen (RK₁₃-Zelllinie). Der Titer der Kultur-ernte betrug $5 \cdot 10^{-6,0}$ KID₅₀/ml. Die Virusaufbereitung erfolgte wie für das Ajeszky-Virus beschrieben.

Alle Testviren wurden in Portionen zu 2ml abgefüllt und bei -70°C bis zur Verwendung gelagert.

3.1.3. Virusnachweise

Die verschiedenen Virusarten wurden in folgenden Systemen nachgewiesen:

Zellkulturen von Kaninchennieren (Zelllinie RK₁₃) dienten zum Nachweis für das Ajeszky- und Vaccinia-Virus. Die in Industrieflaschen dichtgewachsene Monolayer-Zellkultur wurde nach Abgessen des Mediums mit ca. 15ml einer STV-Lösung (100ml Saline 10-fach konzentriert, 50ml 1,25%ige Trypsinlösung, 25ml 1%ige Versenelösung, ad 1000ml Aqua bidest.) beschickt und 5-15 Minuten im Brutschrank bei 37°C inkubiert, bis sich die Zellen von der Glasfläche gelöst hatten. Das Zell/STV-Gemisch wurde anschliessend 10 Minuten lang bei 1500 UpM zentrifugiert, das Zellsediment in ca. 5ml Anzuchtmedium aufgenommen, gründlich resuspendiert und dann in einem Teilungsverhältnis von 1:2 bis 1:3 neu in Zellkulturröhrchen oder Industrieflaschen eingesät und bei 37°C bebrütet.

Das Anzuchtmedium setzte sich wie folgt zusammen:

90% Medium TC199

10% Kälberserum

Antibiotika (100 I.E. Penicillin und 100 Streptomycin
pro ml Medium)

Als Erhaltungsmedium diente das TC199 mit Antibiotikazusatz, jedoch ohne Kälberserum. Das Erhaltungsmedium ersetzte das Anzuchtmedium, sobald der Zellrasen dicht gewachsen war, in der Regel nach 2-3 Tagen.

Nach der Beimpfung der Zellkulturen mit dem Aujeszky-Virus trat je nach vorliegender Verdünnung nach 2-5 Tagen, mit dem Vaccinia-Virus nach 1-4 Tagen ein zytopathischer Effekt auf; dieser führte - je nach Impfdosis - nach längstens 7 Tagen zu einer 80-90%igen Zerstörung des Zellrasens.

Zum Nachweis des HCC-Virus diente die Hundenieren-Zelllinie MDCK. Es wurde folgendes Anzuchtmedium verwendet:

90% Medium L-15 (Leibovitz-Medium)

10% Kälberserum

Antibiotika (100 I.E. Penicillin, 100 Streptomycin pro
ml Medium)

Das Erhaltungsmedium entsprach dem Anzuchtmedium, jedoch ohne den Zusatz von Kälberserum.

MDCK-Zellen wurden in einem Verhältnis von 1:3 bis 1:5 geteilt; der Zellrasen war nach 2-3 Tagen dicht gewachsen. Die einzelnen Schritte der Zellgewinnung entsprechen denen der AK₁₃-Linie. Dichtgewachsene Zellkulturen wurden mit Virus beimpft. Ein virusspezifischer, zytopathischer Effekt trat nach 2-4 Tagen auf und führte in der Regel innerhalb einer Woche zur Zerstörung der Monolayer-Kultur.

Als Nachweissystem für das Newcastle-Disease-Virus dienten 10 Tage alte, embryonierte Hühnereier aus nicht geimpften Beständen. Sie wurden über die Allantoishöhle beimpft. Als positiv wurden nur solche Bruteier gewertet, die ab dem 2.Tag p.inf. bis zum 4. Tag abstarben. Am ersten Tag nach der

Beimpfung abgestorbene Embryonen wurden nicht als virusspezifisch gewertet. In Zweifelsfällen wurde die Spezifität des Todes mit Allantoisflüßigkeit im Hämagglutinationstest ermittelt.

Als Testsystem für das Teschen-Virus dienten primäre Schweinenierenzellkulturen. Schweinenieren von frisch geschlachteten, möglichst jungen Tieren wurden wiederholt mittels PBS-Trypsiniert (Phosphate-buffered-saline mit 0,25% Trypsin). Aus dem dann gewonnenen Zellsediment wurden Zellen in einer Menge von 750.000 pro ml Medium in Roux-Flaschen eingesät. Der Zellrasen wuchs innerhalb von 4-8 Tagen dicht.

Das Anzuchtmedium für Schweinenierenzellen setzte sich wie folgt zusammen:

- 78,5% Earle'sche Salzlösung
- 10% Kälberserum
- 10% Lact-Albumin (hydrolisiert, 5%ige Lösung)
- 1,5% Phenolrot (in 0,1%iger Lösung)
- Antibiotika (100 I.E. Penicillin, 100 Streptomycin pro ml Medium)

Das Zellerhaltungsmedium enthielt kein Kälberserum, dafür 10% mehr Earle'sche Salzlösung.

Nach Beimpfung mit dem Teschen-Virus entwickelte sich innerhalb von 1-2 Tagen ein zytopathischer Effekt (Abkugelungen). Er verstärkte sich und nach längstens fünf Tagen trat eine vollständige Lysis der Kultur ein.

3.1.4. Virustitrierung

Die Bestimmung des Virusgehalts wurde an allen Proben mittels Titrierung in Zehnerpotenzen durchgeführt. Von jeder Verdünnungsstufe, die mit dem zugehörigen Medium oder im Falle des ND-Virus mit PBS (Phosphate-buffered-saline) hergestellt

wurde, wurden vier Reagenten der Nachweissysteme (vgl. Kap. 3.1.3.) mit je 0,1ml beimpft. Die Auswertung erfolgte nach cytopathischem Effekt bzw. bei Bruteiern nach Absterberate. Die Berechnung der Virustiter erfolgte nach der Methode von KÄRBER (1931) und SPEARMAN (1908) in 50% kultur- bzw. einfektösen Dosen (KID_{50} bzw. EID_{50}).

3.1.5. Versuchsanordnung

- a) Prüfung der Virusstabilität im Versuchswasser unter Berücksichtigung der Temperatur, des pH-Wertes, der Wasserhärte und der Wasserart

Die verschiedenen Wasserproben wurden in Schraubflaschen zu 300ml abgefüllt. Das zu prüfende Virus wurde in Form der Stammvirusproben in einer solchen Menge den vorgekühlten Flaschen zugesetzt, daß sich dort rechnerisch ein Virusgehalt von 10.000 KID_{50} bzw. EID_{50} pro Milliliter einstellte. Die dafür notwendigen Virusvorverdünnungen wurden mit der jeweiligen Wasserart vorgenommen. Die Flaschen wurden dann bei 9°C bzw. 15°C in völliger Dunkelheit über den Versuchszeitraum gelagert. In Zeitabständen von 2-20 Tagen - je nach Virusart - wurden nach mehrmaligem Umschütteln der Wasserflaschen Proben von 2ml entnommen, steril abgefüllt in Schraubfläschchen und immer bei -70°C eingefroren, unabhängig davon, ob die Virustitrierung noch am gleichen Tage vorgenommen wurde. Virusverluste, wie sie infolge eventuell notwendiger Lagerung über Einfrieren entstehen können, wurden dadurch weitgehend normiert.

Alle Versuche wurden mit zwei Kontrollen durchgeführt: Eine Kontrolle bestand aus nicht-infizierten Zellkulturröhrchen, eine andere aus Zellkulturen, die in der Dosis von 0,1ml pro Kulturröhrchen bzw. Brutei mit dem Versuchswasser beimpft

wurden. Bei keiner der letzteren Kontrollen wurde ein cytopathischer Effekt gefunden.

Zur Prüfung der Virusstabilität unter dem Einfluß der verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen wurde das Wasser München, welches in diesem Fall als Standardwasser diente, mit n/10 Salzsäure bzw. Natronlauge auf einen pH-Wert von 6 bzw. 8 eingestellt.

b) Versuche mit gechlortem Wasser

Für die Untersuchung mit gechlortem Wasser wurde eine Natriumhypochlorit-Lösung mit ca. 150g/l freiem Chlor verwendet. Die Messung der Chlorkonzentration erfolgte mit Natriumthiosulfat. Eine vorgegebene Menge der Natriumhypochloritlösung wurde mit Kaliumjodid versetzt und nach Ansäuerung dicht verschlossen und dunkel gelagert. Nach 15 Minuten erfolgte die Titration mit 0,01n-Natriumthiosulfatlösung; als Indikator diente Stärkelösung. Alle Chemikalien wurden jeweils frisch angesetzt bzw. gebrauchsfertig bezogen. Die Chlorkonzentration der Natriumhypochloritlösung wurde vor jedem Versuch neu ermittelt.

Die Herstellung der gewünschten Chlorkonzentration erfolgte durch Verdünnung von vorher titrimetrisch bestimmten Chlorklösungen mit zweifach-destilliertem Wasser. Der auf diese Weise zuerst rechnerisch ermittelte neue Chlorgehalt wurde durch erneute Titration bestätigt und dann in der erforderlichen Menge der Wasserprobe von 100ml zugefügt. Für das verwendete Versuchswasser (Wasser München) lag das Chlorbindungsvermögen bei 0,05mg/l. Dieses wurde experimentell nach der von HÜLL (1970) beschriebenen Weise ermittelt und stimmt mit den Erfahrungswerten der Wasserwerke München überein (ALEXANDER, 1974). Dieser Wert wurde den Wasserproben bereits zudosiert, so daß sich ein echter Chloranfangsgehalt von 0,1 bzw. 0,5mg/l ergab.

Die Wassertemperatur betrug während des Chlorungsvorganges

6 - 8°C. Die Wasserproben wurden dunkel gelagert. Alle Chlorangaben beziehen sich auf die Anfangskonzentration von freiem Chlor.

Die Neutralisation des Chlors nach Ablauf der gewünschten Versuchszeit erfolgte durch sofortige Zugabe einer stöchiometrisch reichlich bemessenen Menge von 0,01n Natriumthiosulfatlösung zu den Wasserproben von 10ml. Nach einer Einwirkungszeit von 30 Minuten (6-8°C, in Dunkelheit) wurden die Proben in Zehnerpotenzen verdünnt und verimpft. In Vorversuchen wurde gezeigt, daß die angewendete Menge Thiosulfat keine schädigende Wirkung auf Viren und Zellkulturen hatte.

3.2. VERSUCHE UND ERGEBNISSE

3.2.1. Einfluß der Temperatur auf die Stabilität von Viren im Wasser

Die Versuche wurden bei jeweils 9°C und 15°C durchgeführt. Diese Temperaturen können als unterer bzw. oberer Grenzwert unter natürlichen Bedingungen in Trinkwasser, Flüssen und Seen angesehen werden.

AU-Virus Das Virus war im Wasser München über 50 (9°C) bzw. 16 Tage (15°C), im Wasser Isar über 25 bzw. 16 Tage und im Wasser Tegernsee über 30 bzw. 25 Tage nachweisbar. Der Ausgangsvirusgehalt in den Wasserproben differierte um maximal eine halbe Zehnerpotenz. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 2 bis 3 dargestellt. Die Inaktivierungskurven lassen bei 15°C durchwegs linearen, bei 9°C erst mit fortschreitender Versuchszeit linearen Verlauf erkennen.

HCC-Virus Dieses Virus war über den gesamten Versuchszeitraum von 204 bzw. 212 Tagen nachweisbar. Der Virusverlust betrug bei beiden Temperaturen bis zur letzten Probenentnahme ca. drei Zehnerpotenzen. Der Verlauf der Stabilitätskurven ist konkav (vgl. Abbildungen 4 und 5).

ND-Virus Bei 9°C war das Virus bis zum Ende des Versuchszeitraumes (195 bzw. 208 Tage), bei 15°C nur 136 Tage (Wasser Isar) bzw. 157 Tage (Wasser Tegernsee) nachweisbar. Auch hier ging der Virusgehalt bei 9°C in der Versuchszeit um ca. drei Zehnerpotenzen zurück. Die Virusanfangskonzentrationen in den Wasserproben variierten um maximal 0,75 Zehnerpotenzen (Abbildungen 6 und 7). Die Inaktivierungskurven verlaufen streng linear.

I-Virus Das Virus war über den gesamten Versuchszeitraum von 168 Tagen in den Wasserproben nachweisbar. Der Titerabfall betrug bei 9°C-Inkubation am Ende der Versuchszeit nicht mehr als eine, bei 15°C bis zu 2,25 Zehnerpotenzen (Abbildungen 8,9)

Der Verlauf der Inaktivierungskurven ist annähernd linear.

VE-Virus In allen Wasserproben war das Virus zu Ende der jeweiligen Versuchszeit (maximal 234 Tage) noch nachweisbar. Die Virusverluste betrugen in dieser Zeit 1-3 Zehnerpotenzen. Alle Inaktivierungskurven zeigen mit fortschreitender Versuchszeit zunehmende Inaktivierungsrate (Abbildungen 10-11).

Aus den Ergebnissen der vergleichenden Prüfungen lassen sich Temperatureinflüsse auf die Haltbarkeit von Viren unterschiedlicher Arten in diversen Wässern ablesen. Sie treten zunächst insofern markant in Erscheinung, als die Stabilität der einzelnen Virusarten generell starke Unterschiede aufweisen. Bei 9°C blieben die Wässer mit einem Ausgangsvirusgehalt von $10^{3,5}$ bis $10^{5,75}$ KID₅₀/ml je nach Virus mindestens 25 bzw. 234 Tage (AU- bzw. VE-Virus) infektiös, bei 15°C waren diese Differenzen etwa gleich groß.

Neben den prinzipiellen Unterschieden von Virusart zu Virusart hinsichtlich Inaktivierungsgeschwindigkeit zeichneten sich bei bestimmten Viren und Wässern auch signifikante Inaktivierungsunterschiede ab bezüglich der Höhe der Wassertemperatur (9°C oder 15°C). Dies war der Fall beim ND- und Teschen-virus im Wasser Isar und Wasser Tegernsee (Oberflächenwässer), beim Aujeszky-Virus dagegen deutlich nur im Wasser München. Beim Vaccinia- und HCC-Virus sowie bei den anderen Viren unter bestimmten Bedingungen (Teschen-Virus in Wasser München, Aujeszky-Virus in Wasser Isar und Tegernsee) ließen sich eine Temperaturabhängigkeit nicht erkennen (vgl. Tabelle 21)

Tabelle 21:

Infektiosität erhalten über Tage (in Klammern: Abfall des Virusgehalts in Zehnerpotenzen)

		AU-Virus	ND-Virus	HCC-Virus	VE-Virus	T-Virus
9 °C	Wasser München	50(3,5)			> 234(2,75)	>168(1,0)
	Wasser Isar	25(3,5)	> 208(3,0)	>190(2,75)	> 182(1,0)	>168(0,75)
	Wasser Tegernsee	30(3,5)	> 195(3,0)	>204(2,75)	> 140(1,25)	>168(0,25)
15 °C	Wasser München	16(3,5)			> 234(2,25)	>168(1,5)
	Wasser Isar	16(3,5)	136(5,25)	>230(2,75)	> 196(1,0)	>168(2,25)
	Wasser Tegernsee	25(3,0)	157(4,75)	>192(2,25)	> 181(1,75)	>168(1,5)

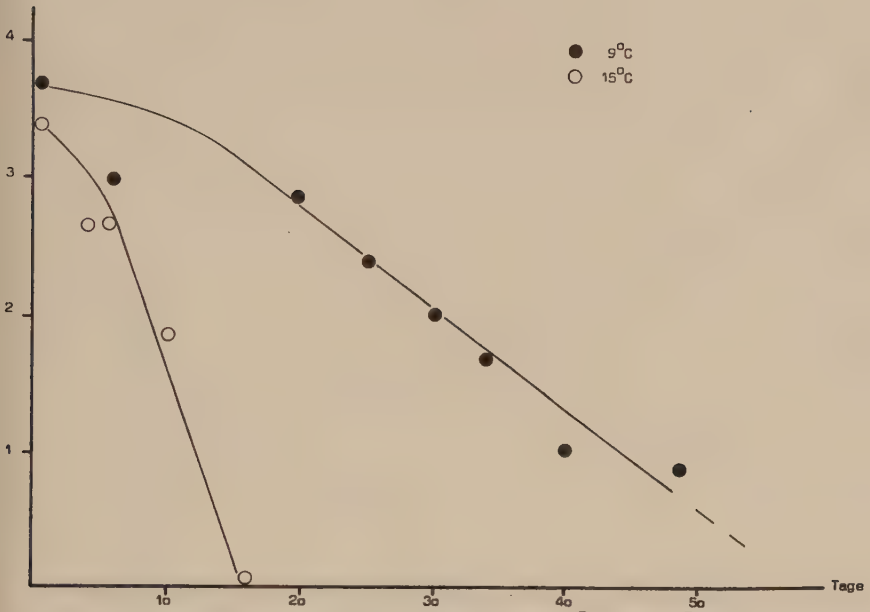


Abb. 2: Aujeszky-Virus im Wasser München bei 9°C und 15°C

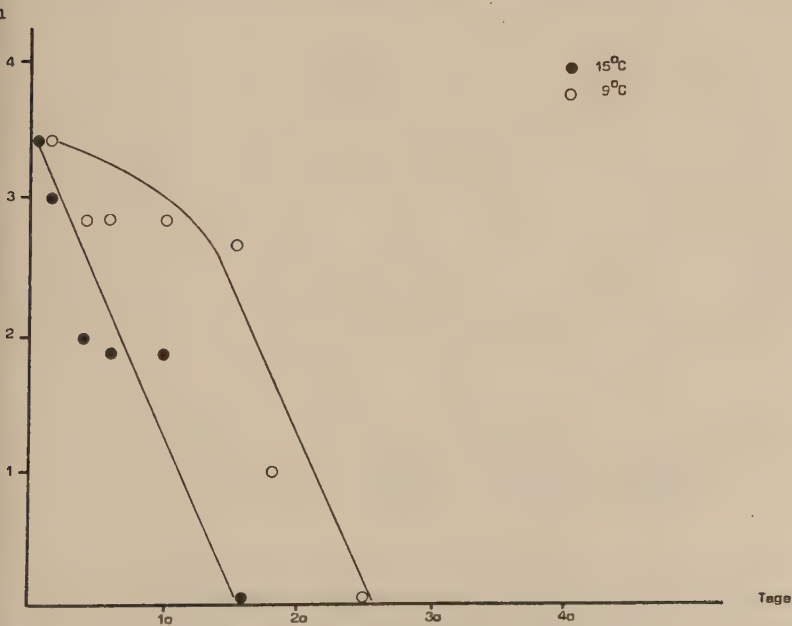


Abb. 3: Aujeszky-Virus im Wasser Isar bei 9°C und 15°C

lg KID₅₀/ml

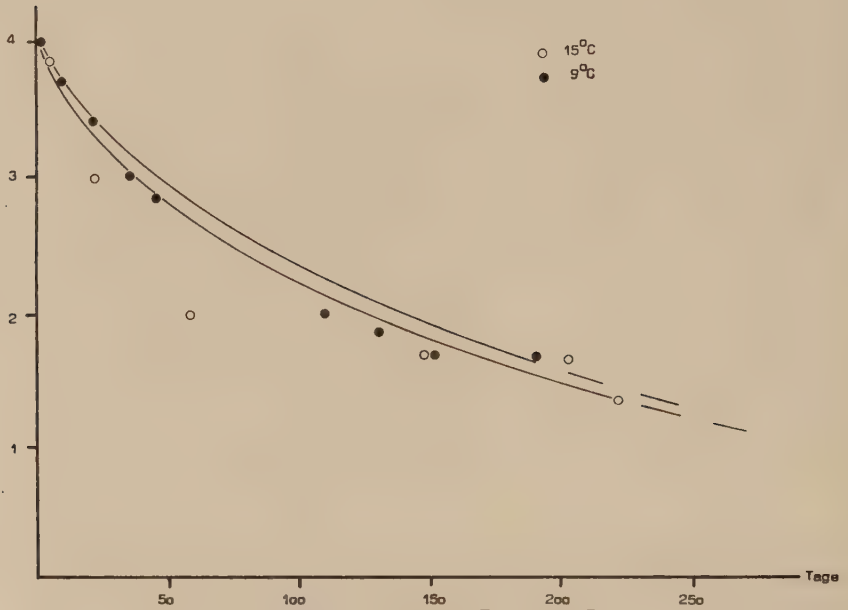


Abb. 4: HCC-Virus im Wasser Isar bei 9°C und 15°C

lg KID₅₀/ml

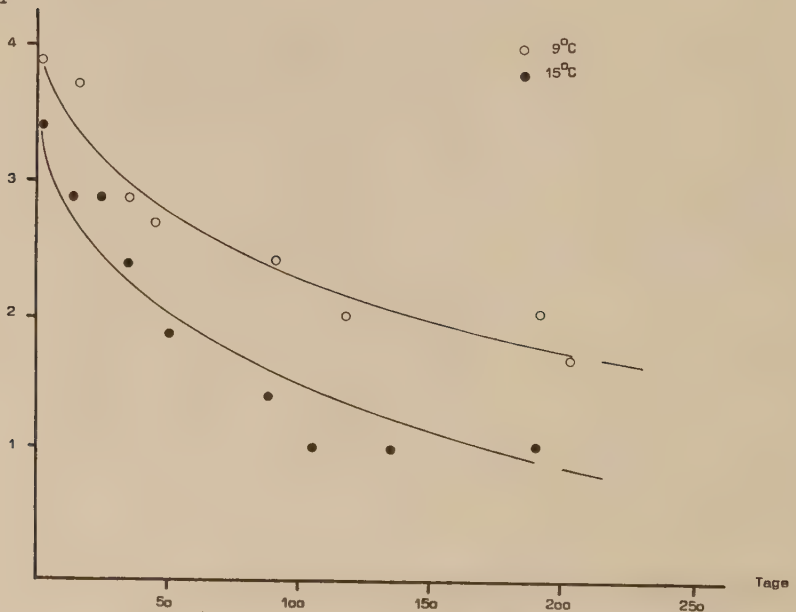


Abb. 5: HCC-Virus im Wasser Tegernsee bei 9°C und 15°C

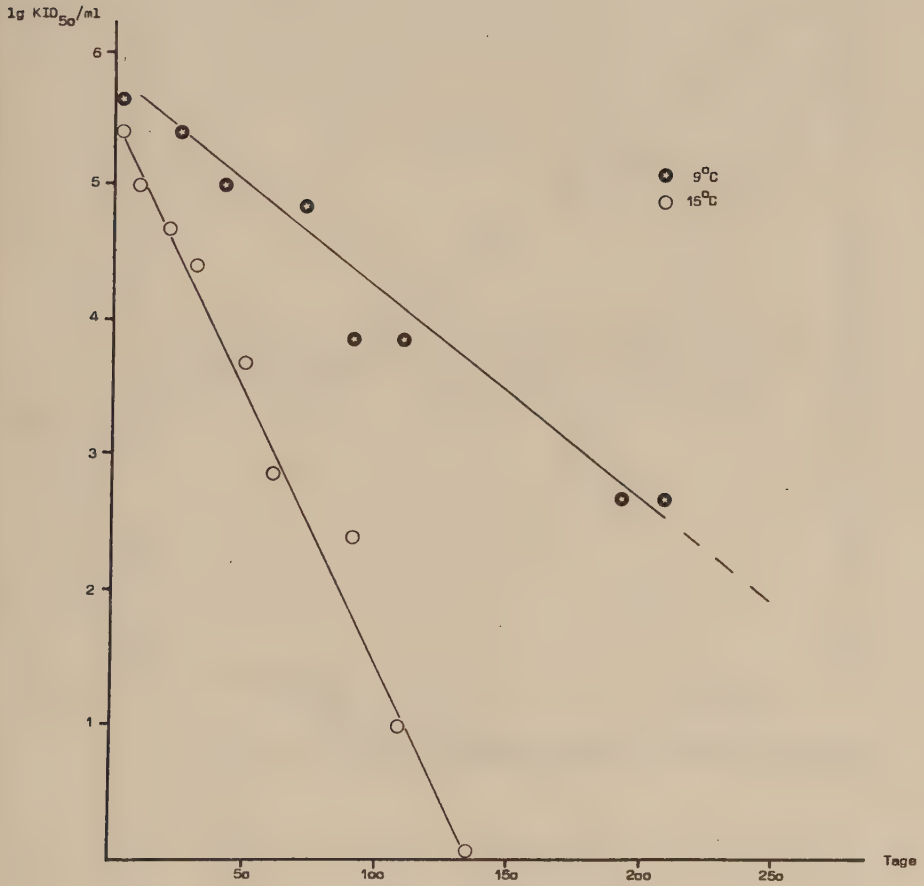


Abb. 6: ND-Virus im Wasser Isar 9°C und 15°C

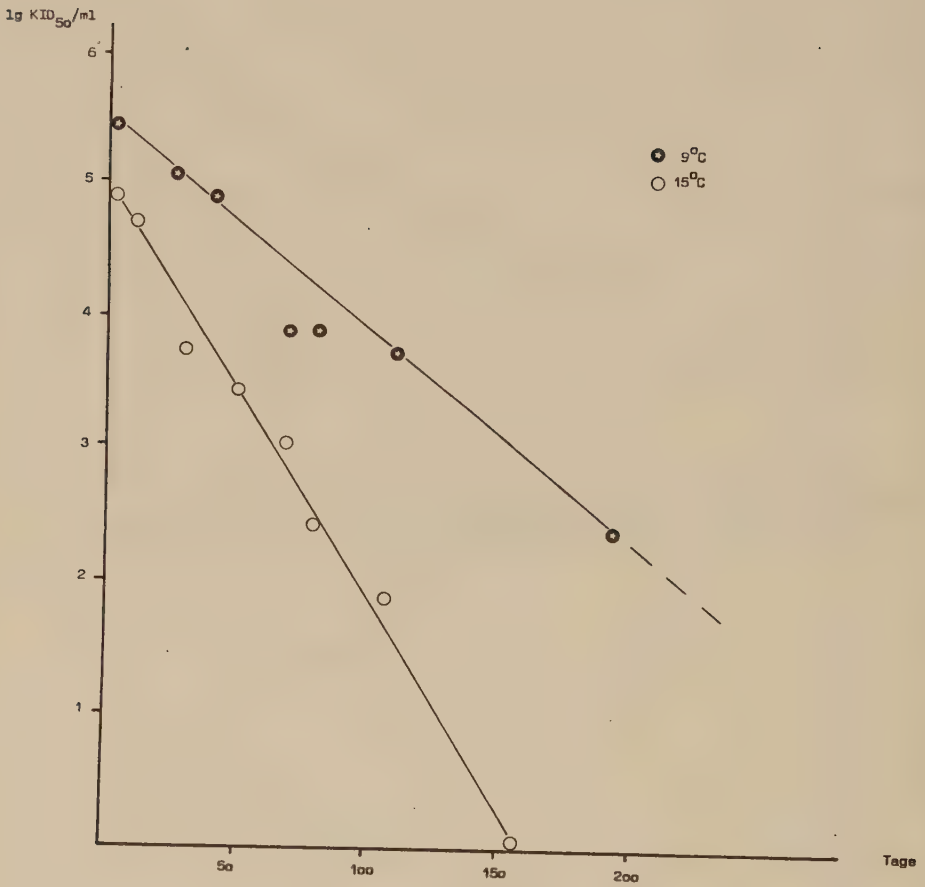


Abb. 7: ND-Virus im Wasser Tegernsee bei 9°C und 15°C

lg KID₅₀/ml

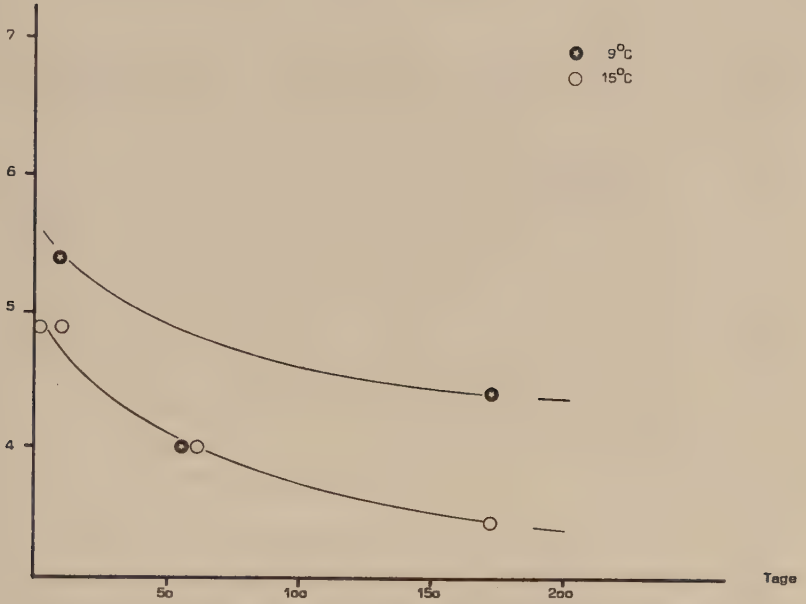


Abb. 8: Teschen-Virus im Wasser München bei 9°C und 15°C

lg KID₅₀/ml

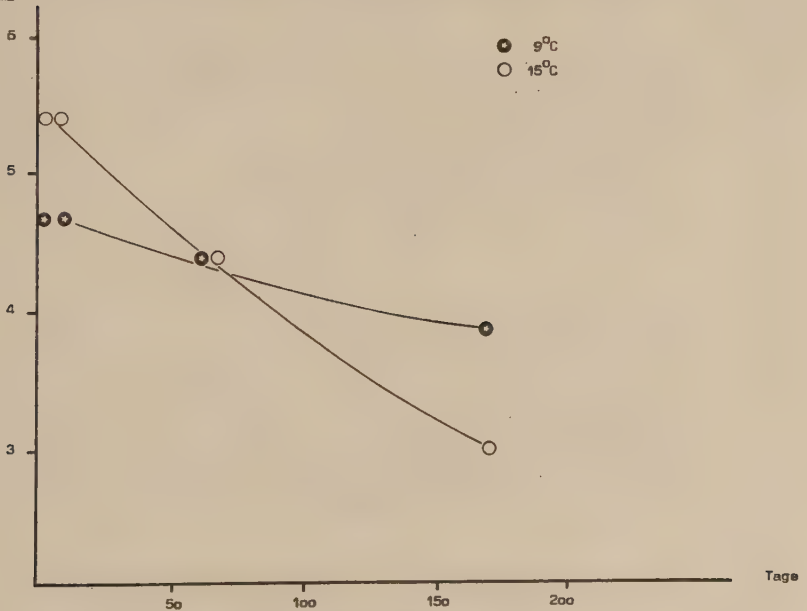


Abb. 9: Teschen-Virus im Wasser Isar bei 9°C und 15°C

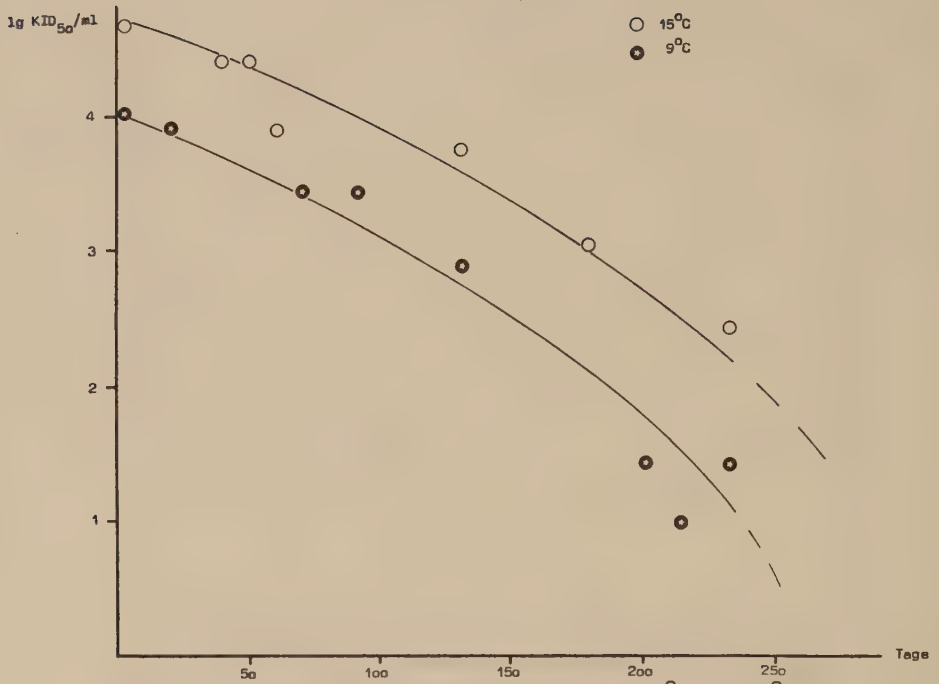


Abb. 10: Vaccinia-Virus im Wasser München bei 9°C und 15°C

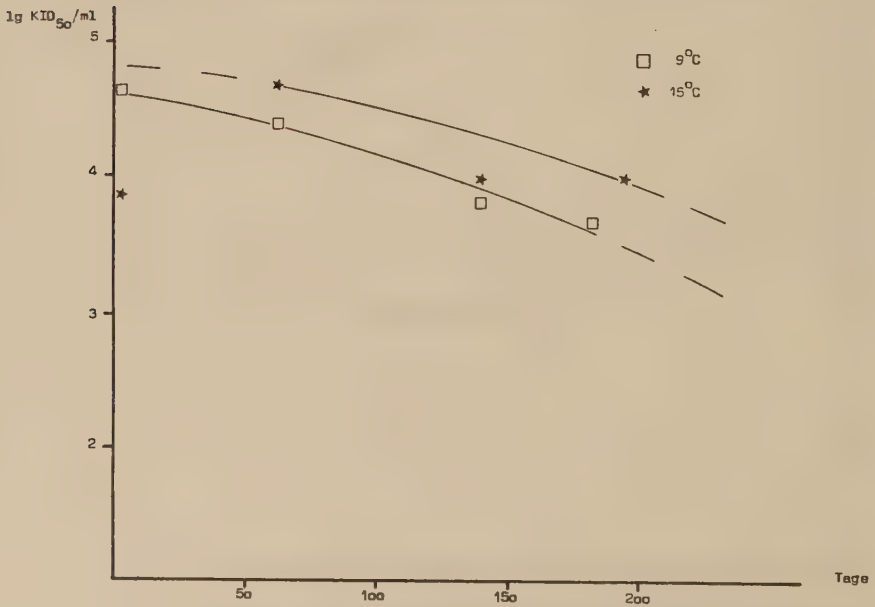


Abb. 11: Vaccinia-Virus im Wasser Isar bei 9°C und 15°C

3.2.2. Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration

Die Versuche wurden mit dem Wasser München durchgeführt, das einen pH-Wert von 7,3 bis 7,5 hat. Es wurde mit n/10 NaOH bzw. n/10 HCl auf Werte von 6,0 und 8,0 eingestellt. Daneben wurde das Wasser Wahnbach mit einem natürlichen pH-Wert von 8,6 herangezogen. Die Versuchstemperatur betrug einheitlich 9°C.

AU-Virus Das Virus hielt sich am längsten bei pH=7,45 (50 Tage), bei pH=6 im Wasser der gleichen Zusammensetzung 25 Tage, bei pH=8 15 Tage und bei pH=8,6 (Wasser Wahnbach) 36 Tage. Die Virusanfangskonzentrationen in den Wasserproben differierten um maximal 0,5 Zehnerpotenzen (vgl. Abb.12). Die Inaktivierungskurven verliefen entweder ganz linear oder erst nach anfänglicher Abweichung.

T-Virus Die Anfangskonzentrationen in den Wasserproben differierten hier um bis zu 1,25 Zehnerpotenzen. Über den Versuchszeitraum von 168 Tagen nahm der Virusgehalt um maximal 1,25 Zehnerpotenzen ab. Alle Inaktivierungskurven verlaufen mit schwach konkaver Krümmung (Abbildung 13).

VE-Virus Bei Ausgangs-Virusgehalten von $10^{4,0}$ bis $10^{4,75}$ KID₅₀/ml konnte das Virus bei pH=6 234 Tage lang nachgewiesen werden. Bei pH=7,45 war nach 284 Tagen ein Abfall der Viruskonzentration um ca. zwei Zehnerpotenzen meßbar, bei pH=8 nach 276 Tagen um ca. drei Zehnerpotenzen. Im Wasser Wahnbach (pH=8,6) betrug der Abfall nach 196 Tagen etwa eine Zehnerpotenz. Die Inaktivierungskurven zeigen alle eine schwach-konvexe Krümmung (Abbildung 14).

Da alle Versuche bei 9°C und mit weitgehend gleichem Wasser durchgeführt wurden, lassen sich trotz geringer Unterschiede in den Inaktivierungskurven doch einige Aussagen machen. Bestätigt wurde die grundsätzlich große Labilität des Aujeszky-Virus gegenüber dem Teschen- bzw. Vacciniavirus hinsichtlich allgemeiner Haltbarkeit in Wasser, unabhängig von der Wasserstoffionenkonzentration. Auffallend ist ferner das jeweils

etwas abweichende Verhalten der Viren im Wasser Wahnbach, das aber nicht bzw. nicht allein dem höheren pH-Wert (8,6) zugeschrieben werden kann (vgl. Abbildung 12). Die Kurven des Teschenvirus verlaufen im Bereich pH6-8 parallel, die beim Vacciniavirus zumindest sehr ähnlich. Allein bei dem allgemein sehr labilen Aujeszky-Virus scheint der pH-Wert doch einen gewissen zusätzlichen Einfluß auf die Virusstabilität auszuüben.

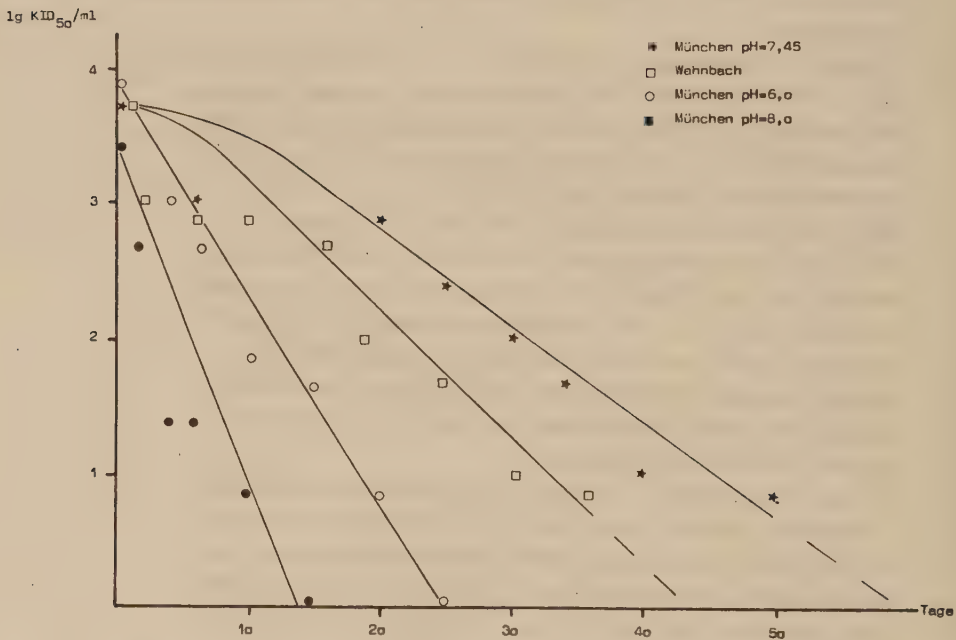


Abb. 12: Aujeszky-Virus in Wässern mit unterschiedlichem pH-Wert

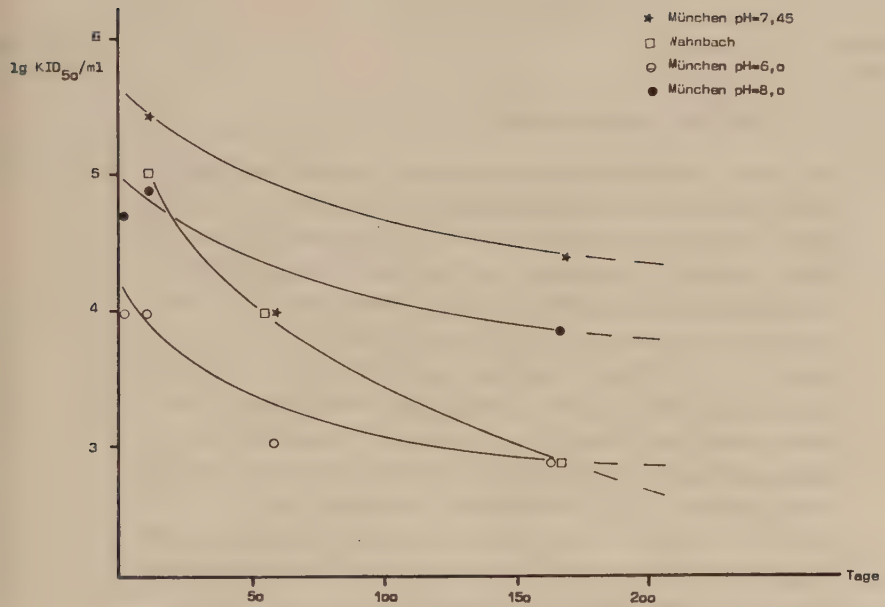


Abb. 13: Teschen-Virus in Wässern mit unterschiedlichem pH-Wert

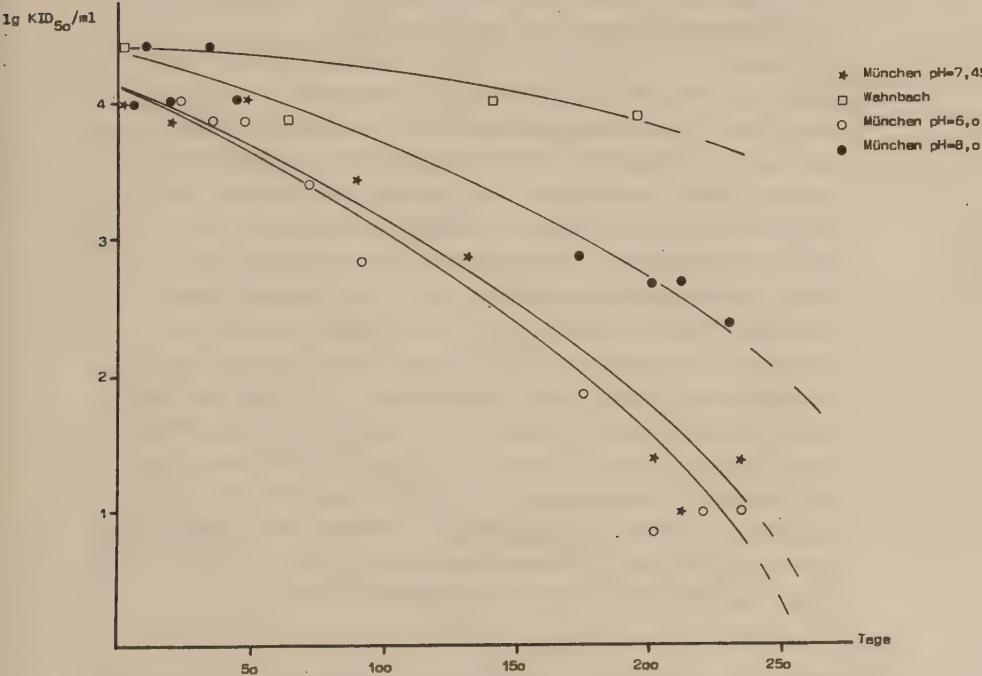


Abb. 14: Vaccinia-Virus in Wässern mit unterschiedlichem pH-Wert

3.2.3. Einfluß der Wasserhärte

Für diese vergleichenden Untersuchungen wurden drei Wasserarten mit unterschiedlicher Härte herangezogen:

Wasser Eschenlohe: Gesamthärte $42,3^{\circ}\text{dH}$, Karbonathärte $9,8^{\circ}\text{dH}$

Wasser München: Gesamthärte $16,0^{\circ}\text{dH}$, Karbonathärte $14,8^{\circ}\text{dH}$

Wasser Wahnbach: Gesamthärte $4,4^{\circ}\text{dH}$, Karbonathärte $1,8^{\circ}\text{dH}$

Die Versuchstemperatur betrug einheitlich 9°C .

Das A u j e s z k y - Virus war im Wasser München über 50 Tage, in den Wässern Eschenlohe und Wahnbach 36 Tage lang nachweisbar. Der Gesamtabfall betrug in dieser Zeit 3,5 Zehnerpotenzen. Die Inaktivierungskurven zeigen nach anfänglicher Abweichung linearen Verlauf (Abbildung 15).

Das T e s c h e n - Virus wurde über einen Zeitraum von 168 Tagen beobachtet, es war auch am Ende der Versuchszeit noch nachweisbar. Der Abfall des Virusgehalts betrug rund eine Zehnerpotenz. Der Kurvenverlauf stellt sich linear bis schwach-konkav gekrümmt dar (Abbildung 16).

Auch das V a c c i n i a - Virus war bis zum Ende der Versuchszeit, die 196-234 Tage betrug, nachweisbar. In dieser Zeit betrug der Abfall des Virusgehalts im Wasser München ca. drei, im Wasser Eschenlohe ca. zwei und im Wasser Wahnbach ca. eine Zehnerpotenz. Alle Inaktivierungskurven sind mehr oder weniger stark konvex gekrümmt (Abbildung 17).

Die Unterschiede in der Haltbarkeit des Aujeszky-Virus bei stark verschiedener Wasserhärte sind nicht als signifikant anzusehen. Über längere Zeiten erlitt jedoch das Teschenvirus im Wasser großer Härte einen auffallend starken Inaktivierungsverlust. Gerade gegensätzlich zum Teschenvirus hielt sich das Vacciniavirus in sehr hartem Wasser langfristig am besten. Diese Unterschiede lassen die Annahme zu, daß die Wasserhärte wahrscheinlich auf Viren generell nur wenig Einfluß auszuüben vermag, einige Virusarten aber - wohl in Zusammenhang mit ihren Struktureigenheiten - in ihrer Stabilität durch die Härte des Wassers beeinflußt werden.

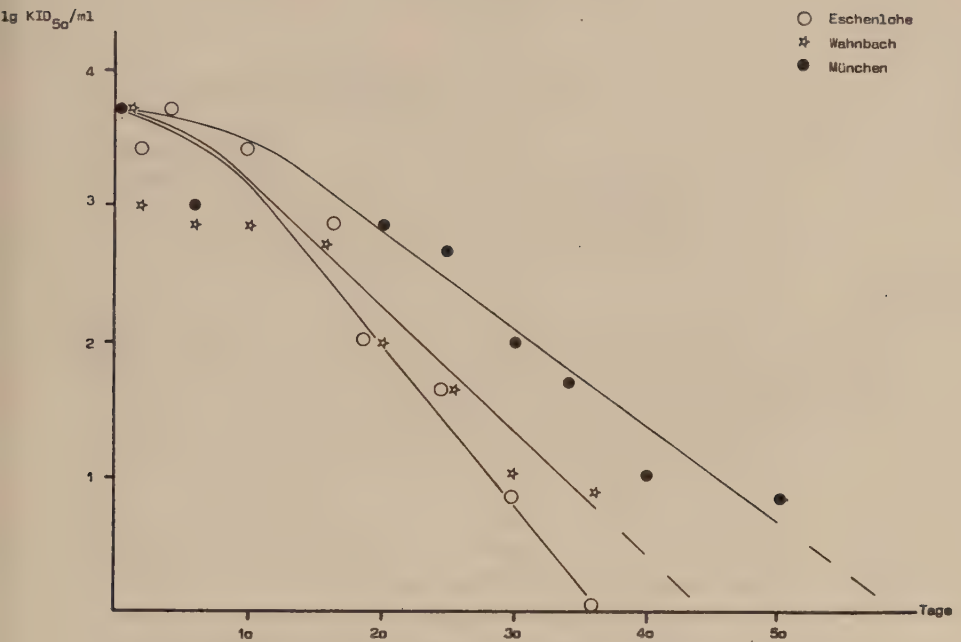


Abb. 15: Aujeszky-Virus in Wässern mit unterschiedlicher Härte

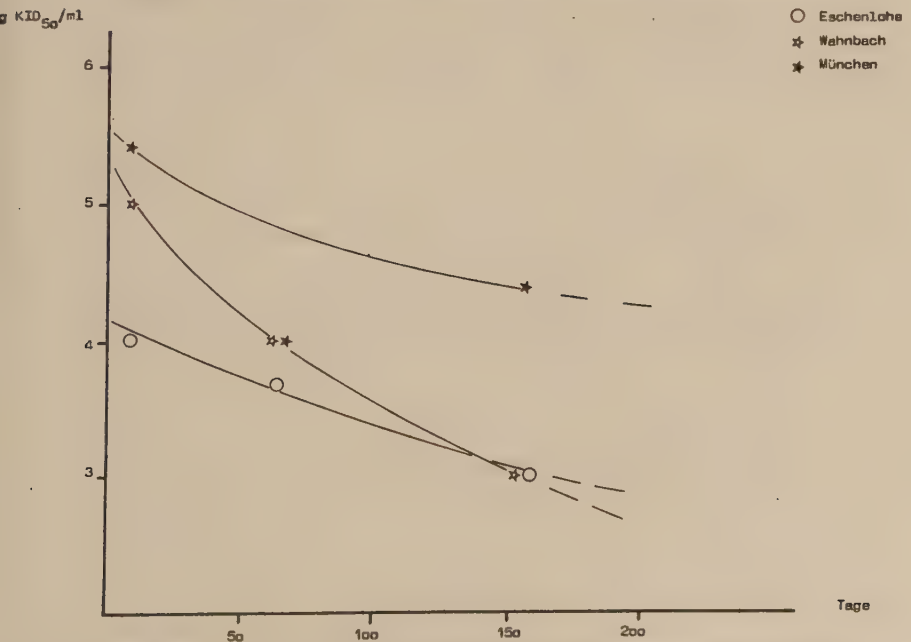


Abb. 16: Teschen-Virus in Wässern mit unterschiedlicher Härte

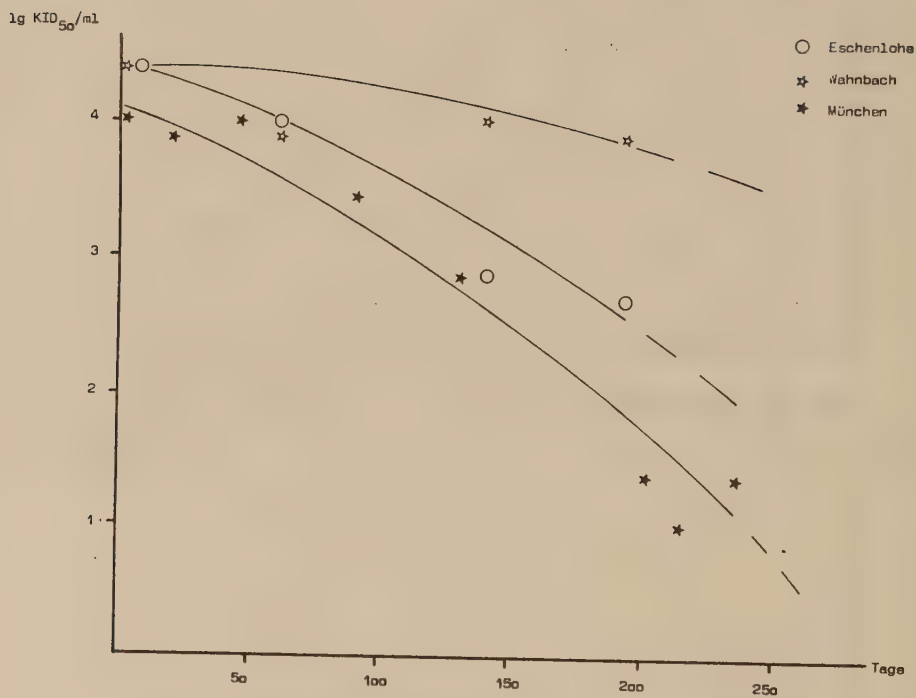


Abb. 17: Vaccinia-Virus in Wässern mit unterschiedlicher Härte

3.2.4. Einfluß der Wasserart

Gearbeitet wurde mit

- a) Wasser München als Vertreter eines Grundwassers
- b) Wasser Isar und Tegernsee als Oberflächenwässer
- c) Wasser Wiesbaden als Vertreter eines aufbereiteten Trinkwassers (Uferfiltrat).

Die Versuche wurden bei 9°C durchgeführt, z.T. auch bei 15°C (Wasser Isar, München, Tegernsee).

Aujeszký-Virus: Das Virus war bei 9°C maximal 50 Tage (Wasser München), mindestens aber 25 Tage lang (Wasser Isar) nachweisbar. Bei 15°C lagen die Werte bei 25 Tagen (Wasser Tegernsee) bzw. 16 Tagen (Isar). Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 18 und 19 dargestellt.

Der Kurvenverlauf differierte etwas bei 9°C und 15°C; während bei 9°C in allen Versuchswässern anfangs nur zögernde Inaktivierung zu verzeichnen ist, bevor ein linearer Titerabfall eintritt, besteht bei 15°C durchwegs linearer Abfall.

HCC-Virus: Das Virus war in allen untersuchten Wässern bis zum Ende der jeweiligen Versuchszeit (204 bzw. 230 Tage) nachweisbar. Die Virusverluste betrugen in dieser Zeit 2-3 Zehnerpotenzen. Alle Inaktivierungskurven zeigen schwach konkave Krümmung (Abbildungen 20 und 21).

ND-Virus: Das Virus war bei 9°C bis zum Ende der Versuchszeit (195 bzw. 208 Tage), bei 15°C jedoch nur 136 (Isar) und 157 Tage (Tegernsee) nachweisbar. Die Virusverluste betrugen dabei 3-4 Zehnerpotenzen. Die Kurvenverläufe stellen sich in allen Wässern linear dar (Abbildungen 22 und 23).

Teschen-Virus: Der Versuchszeitraum betrug hier 168 Tage, das Virus war dann noch nachweisbar. Der Titerabfall erreichte bis zum Ende der Versuchszeit bis zu einer (9°C) bzw. bis zu 2,25 Zehnerpotenzen (15°C). Alle Inaktivierungskurven stellen sich linear bis schwach-konkav gekrümmt dar (Abbildungen 24 und 25).

Vaccinia-Virus: Alle Proben blieben über den gesamten Versuchs-

zeitraum (181 - 234 Tage) viruspositiv, die Virusverluste betrugen 1-3 Zehnerpotenzen. Die Inaktivierungskurven verlaufen mit schwach-konvexer Krümmung (Abbildungen 26 und 27). Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Wasserart in Bezug auf seine Herkunft (eingeschlossen die Einzelfaktoren pH-Wert, Wasserhärte und andere Bestandteile) nur sehr wenig Einfluß auf die generelle Haltbarkeit von Viren in Trink- und Oberflächenwässern haben dürfte. Das zu den labilen Viren zu zählende Aujeszky-Virus lediglich verhielt sich in Grundwasser (Wasser München) bei 9°C signifikant stabiler als in den Oberflächenwasser-Proben, das weniger labile ND-Virus scheint dagegen im Oberflächenwasser etwas haltbarer zu sein. Bei den generell stabileren Arten HCC-, Teschen- und Vacciniavirus können praktisch keine Unterschiede von Wasser zu Wasser abgeleitet werden.

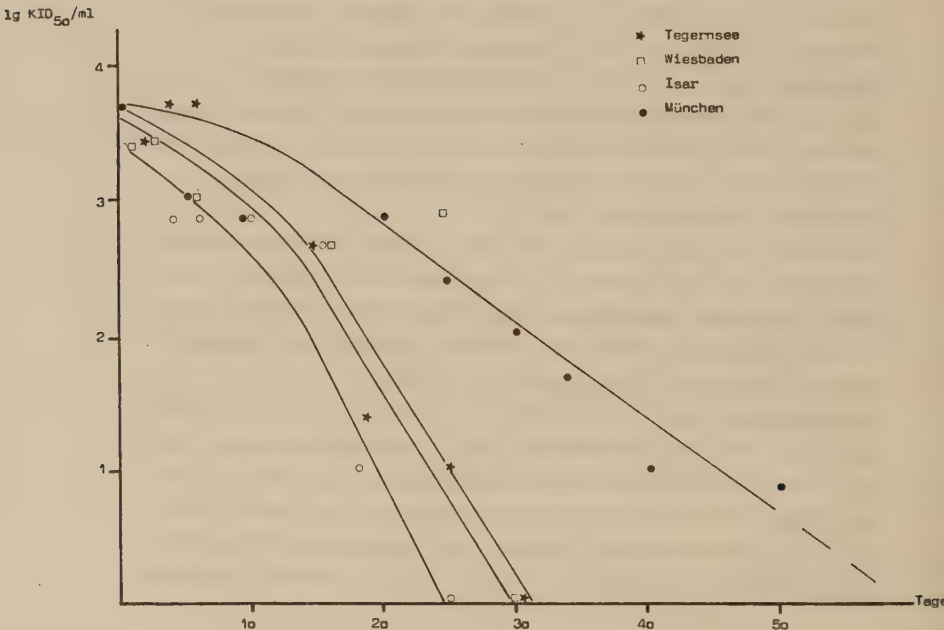


Abb. 18: Aujeszky-Virus in verschiedenen Wasserarten (9°C)

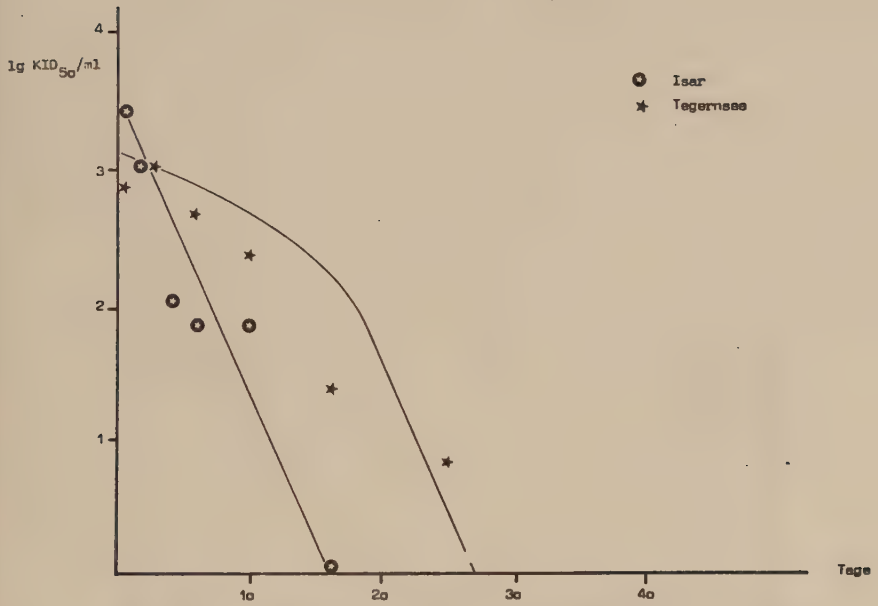


Abb. 19: Aujeszky-Virus in verschiedenen Wasserarten (15°C)

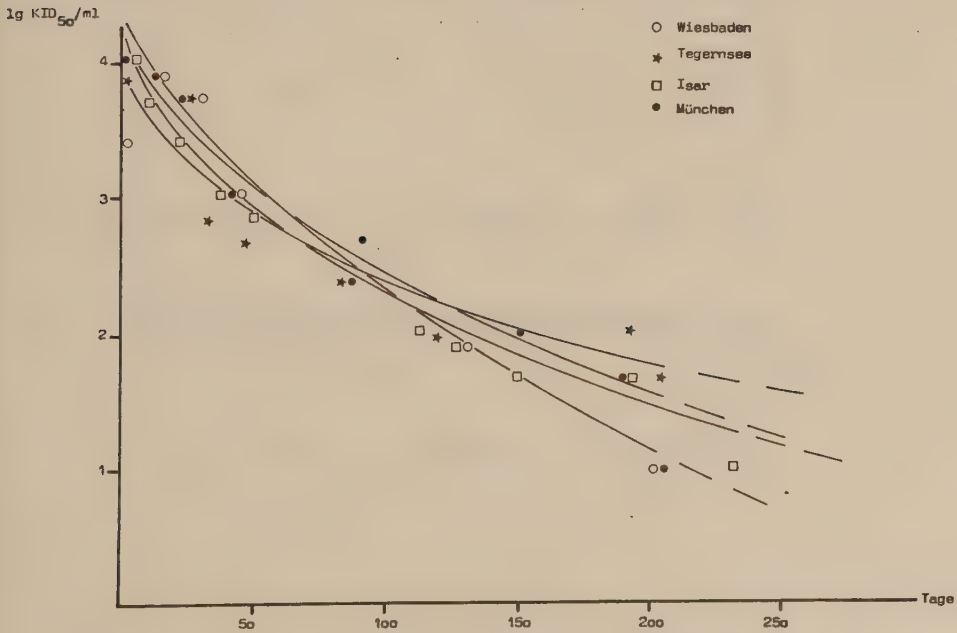


Abb. 20: HCC-Virus in verschiedenen Wasserarten (9°C)

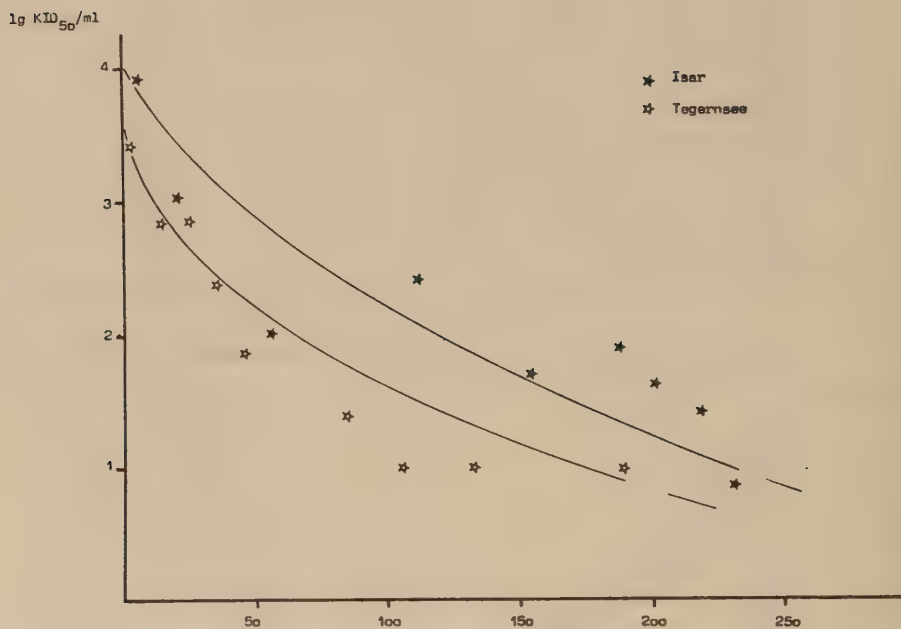


Abb. 21: HCC-Virus in verschiedenen Wasserarten (15°C)

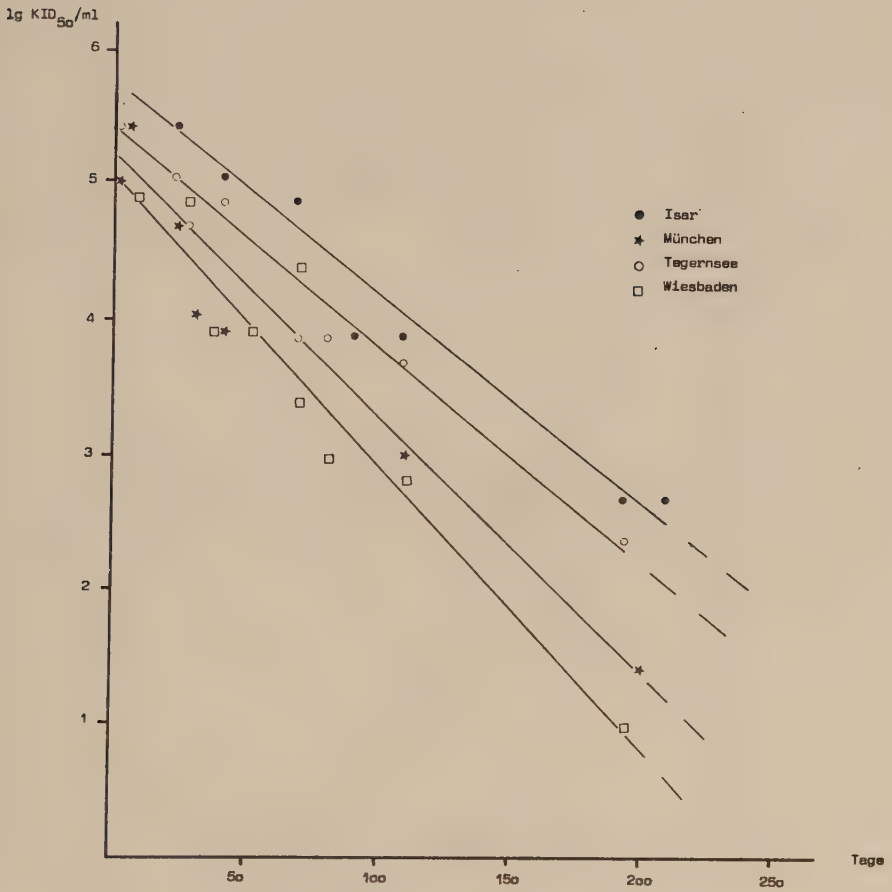


Abb. 22: ND-Virus in verschiedenen Wasserarten (9°C)

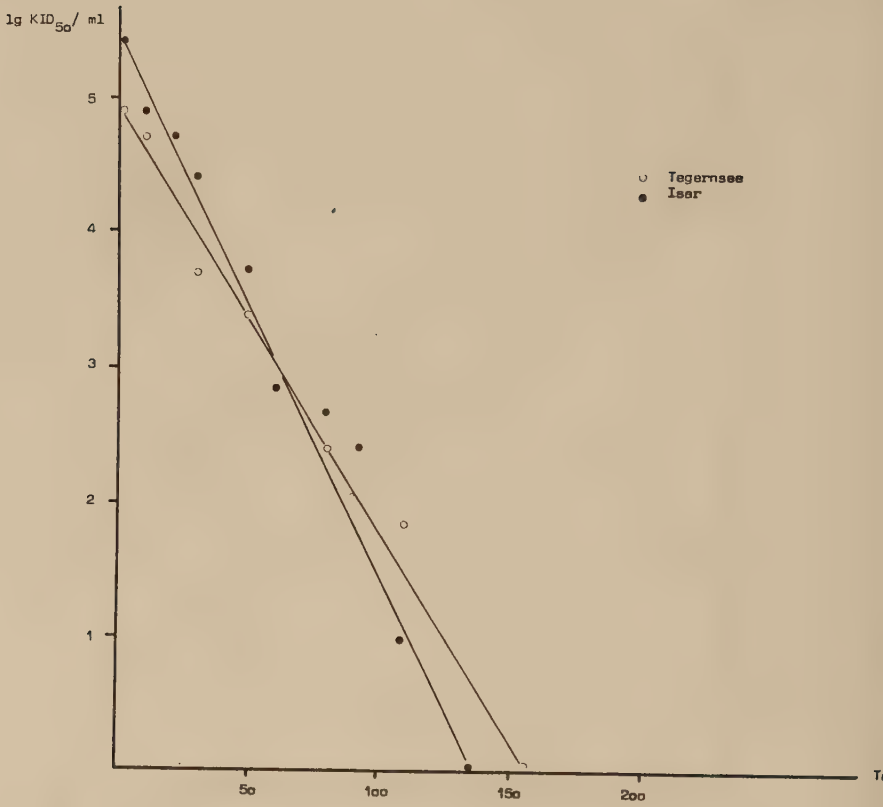


Abb. 23: ND-Virus in verschiedenen Wasserarten (15°C)

1g KID₅₀/ml

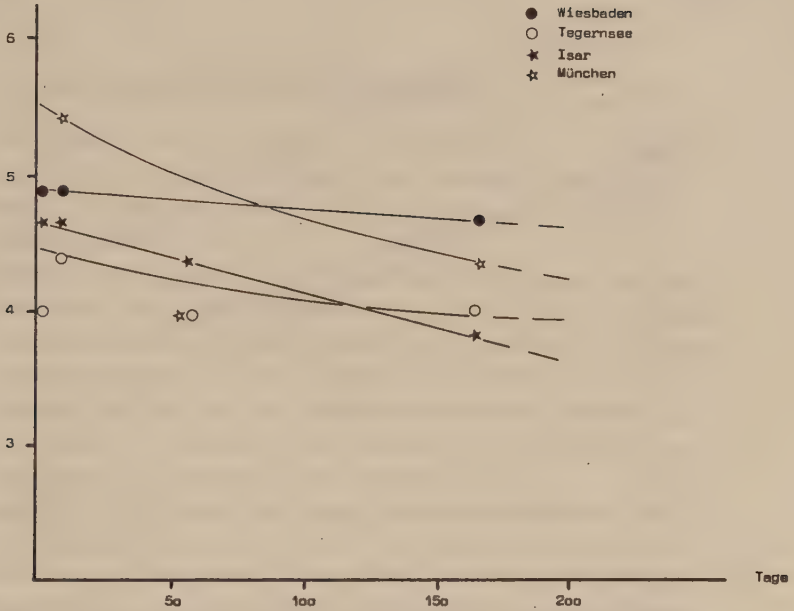


Abb. 24: Teschen-Virus in verschiedenen Wasserarten (9°C)

1g KID₅₀/ml

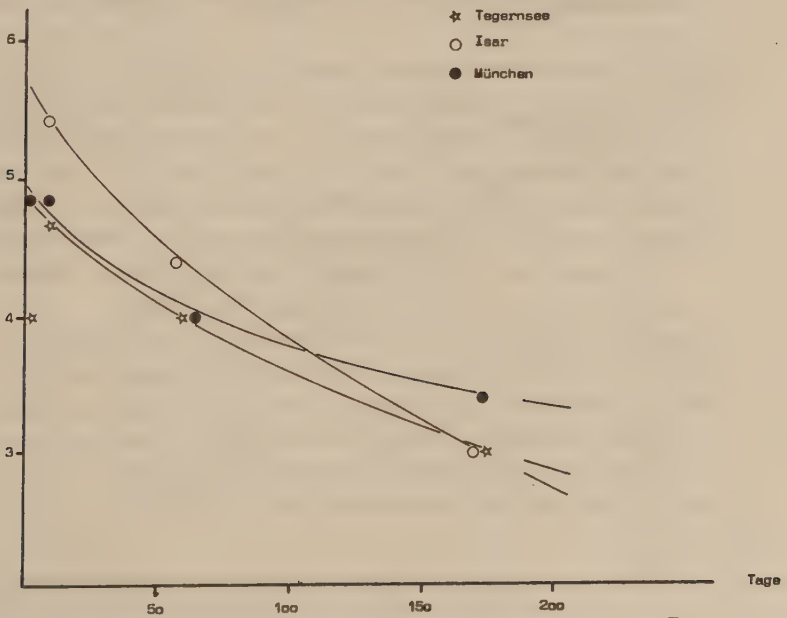


Abb. 25: Teschen-Virus in verschiedenen Wasserarten (15°C)

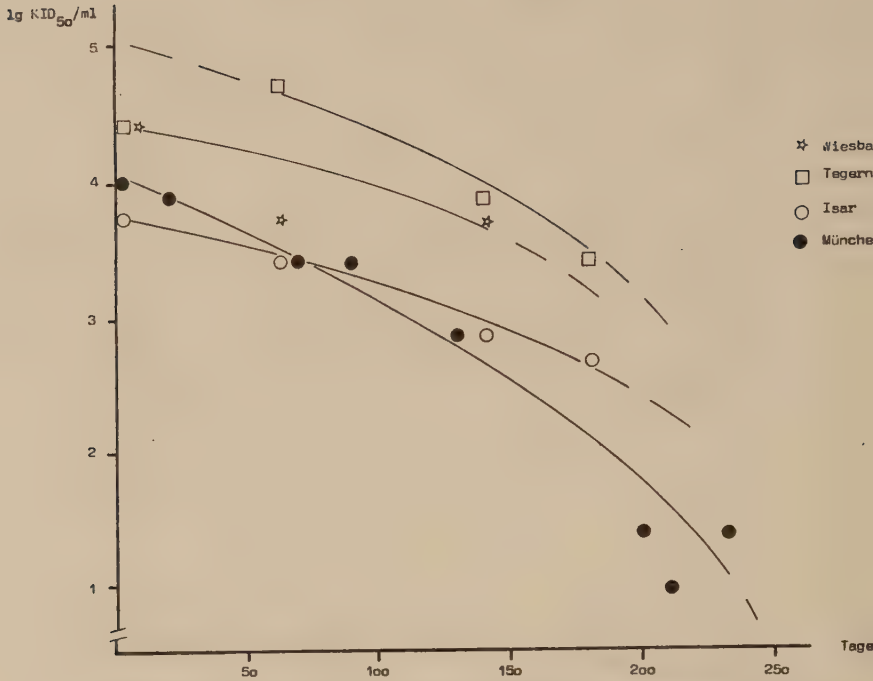


Abb. 26: Vaccinia-Virus in verschiedenen Wasserarten (9°C)

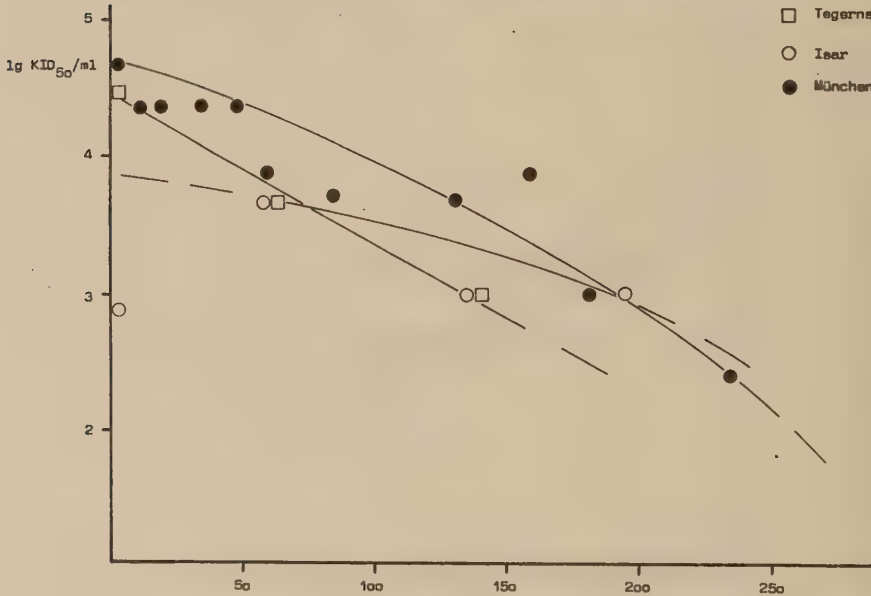


Abb. 27: Vaccinia-Virus in verschiedenen Wasserarten (15°C)

3.2.5. Einfluß der Chlorung üblicher Stärke

Die Chlorung von Trinkwasser wird zur Entkeimung angewandt. Insbesondere aufbereitete Trinkwässer werden heute routinemässig das ganze Jahr über prophylaktisch bzw. zur Keimreduzierung gechlort.

Für die Untersuchungen über den Einfluß der Chlorung auf die Haltbarkeit von Viren wurde mit einem unteren Wert von 0,1mg/l sowie einem oberen Wert von 0,5mg/l Chlor gearbeitet. Letztere Chlorkonzentration findet in Deutschland nur sehr selten Anwendung. Sie ist nach der Trinkwasseraufbereitungsverordnung vorübergehend zugelassen, wenn dies für die ausreichende Entkeimung des Trinkwassers erforderlich ist.

0,1mg/l freies Chlor: Die Virusausgangskonzentrationen der Wasserproben lagen zwischen $10^{3,75} \text{ KID}_{50}/\text{ml}$ (VE-Virus) und $10^{5,5} \text{ KID}_{50}/\text{ml}$ (ND-Virus). Nach einer Einwirkungszeit von zwei Stunden waren alle eingesetzten Virusarten noch nachweisbar. Der Abfall des Virusgehalts war bei dem ND-Virus am höchsten, bei dem VE-Virus am geringsten (1,75 bzw. 0,25 Zehnerpotenzen), vgl. Abb. 28.

0,5mg/l freies Chlor: Die Virusausgangskonzentrationen differierten insgesamt um 0,75 Zehnerpotenzen. Nach zwei Stunden waren nur noch das T- und das VE-Virus nachweisbar (vgl. Abb. 29). Die Inaktivierungskurven zeigen beim HCC- und ND-Virus (0,5mg/l) sowie beim VE-Virus (0,1mg/l) exponentialen Verlauf, während in allen anderen Fällen mit fortschreitender Zeit eine Abnahme der Inaktivierungsrate zu verzeichnen ist.

Es überraschte nicht, daß die schwache Wasserchlorung die eingesetzten, als relativ stabil geltenden Virusarten, vor allem in den für Trinkwasser unnatürlich hohen Viruskonzentrationen, nicht zu inaktivieren vermochte. In stark gechlortem Wasser dagegen werden wahrscheinlich alle Viren in den unter natürlichen Bedingungen in Frage kommenden Konzentrationen (allenfalls 10-100 infektiöse Einheiten/Liter) sicher inaktiviert.

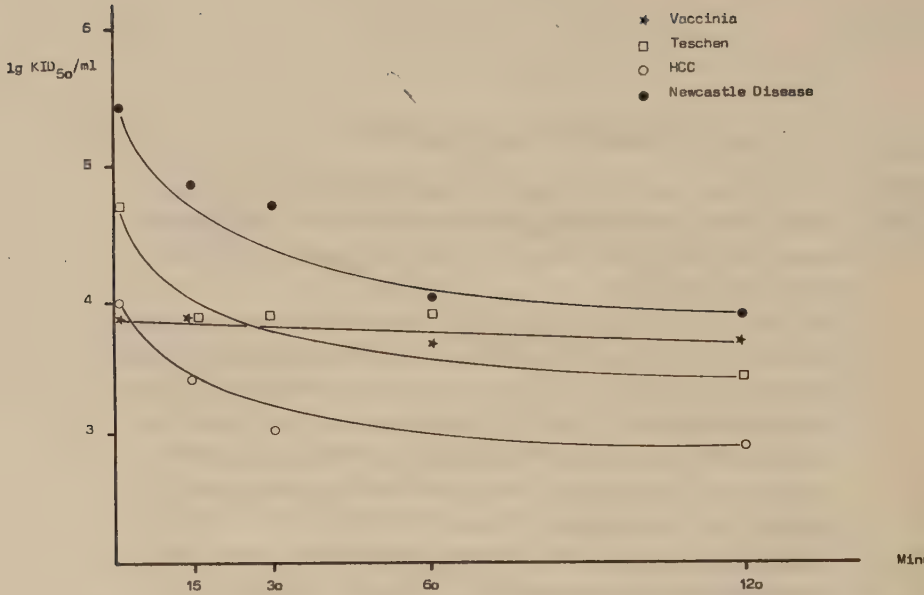


Abb. 28: Wirkung von 0,1mg/l freiem Chlor auf verschiedene Virusarten

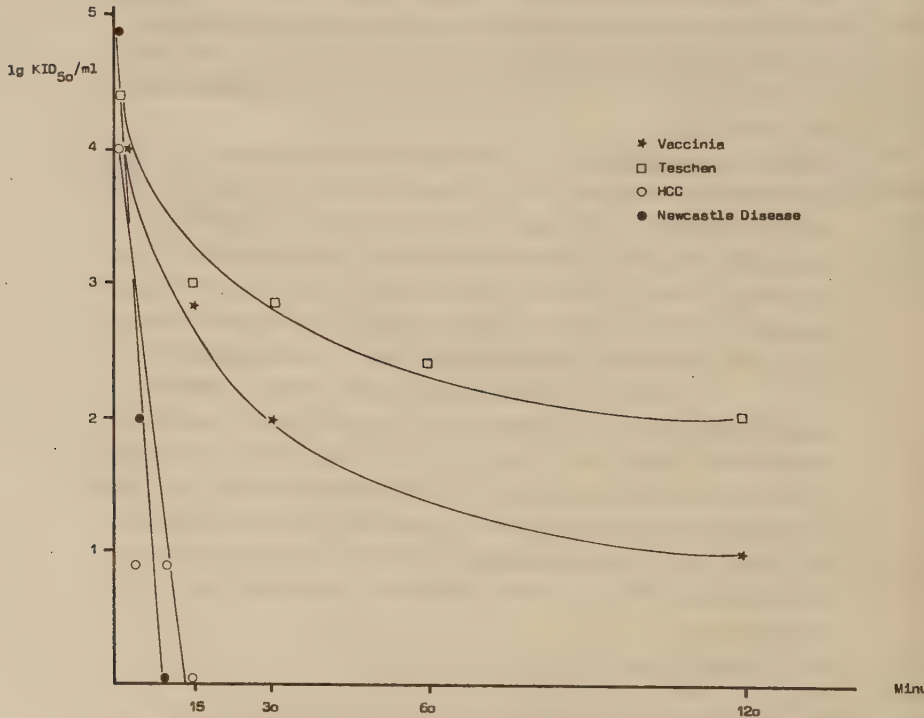


Abb. 29: Wirkung von 0,5mg/l freiem Chlor auf verschiedene Virusarten

4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Es wurde der Versuch gemacht, die Haltbarkeit von Viren verschiedener Art unter Bedingungen zu untersuchen, die mit natürlichen Verhältnissen in Trink- und Oberflächenwasser vergleichbar sind. Bei einer Diskussion der erzielten Ergebnisse müssen jedoch einige Umstände des Experiments berücksichtigt werden, die unter natürlichen Bedingungen sich anders darstellen oder keinen Einfluß haben.

Aus versuchstechnischen Gründen wurden einmal die Wasserproben jeweils steril filtriert. Organische Inhaltsstoffe wurden ihnen so weitgehend entzogen. Aus der Literatur ist aber bekannt, daß sich die Stabilität der Viren z.T. erheblich verlängerte, wenn das Versuchswasser steril filtriert, autoklaviert oder destilliert worden war. Man kann deshalb davon ausgehen, daß die Haltbarkeit der untersuchten Viren unter natürlichen Bedingungen keinesfalls länger ist als die ermittelten Zeitspannen. Auch andere antagonistische Einflüsse, wie man sie in der Natur findet (vgl. Kapitel 2.2.), werden im Laborexperiment ferngehalten. Wasser, welches längere Zeit steht, wird z.B. auch langsam weicher und der pH-Wert nimmt geringfügig zu. Die Ursache liegt in einer "Ausgasung", wobei die größtenteils an Calcium und Magnesium gebundene Kohlensäure - welche die Karbonathärte bildet - in Form von CO_2 entweicht. Für das Wasser München wurde in einem Vorversuch festgestellt, daß über den Zeitraum von 15 Wochen der pH-Wert von 7,45 auf 7,65 stieg.

Zweitens wurde im Laborversuch mit unnatürlich hohen, weit überzogenen Viruskonzentrationen in den Wasserproben gearbeitet, wie sie in der Umwelt selbst in Abwässern praktisch nie erreicht werden. Dies war jedoch notwendig, um bestimmte Einflüsse signifikant hervortreten und erkennbar werden zu lassen sowie die

bei geringen Virusmengen verstärkten, zufälligen Schwankungen auszugleichen.

Für die Interpretierung der Virusstabilitäten ist ferner die Aggregatbildung besonders zu beachten. Sie beeinflusst die Inaktivierung der Viren und findet auch unter natürlichen Bedingungen statt. Über das Ausmaß der Aggregatbildung gibt die Form der Inaktivierungskurven Aufschluß. Grundsätzlich ist sie bei Viren in Lösungen ein natürlicher Vorgang, der von vielen Autoren bestätigt wird (BERG und Mitarbeiter, 1964; BRAKKE, 1967; CHANG, 1967; LIESS, 1974; VIDOR, 1973), und u.a. bei Influenza-, Poliomyelitis- und Vacciniaviren beobachtet wurde. Sie wird gesteigert durch niedrige pH-Werte, höhere Temperaturen sowie verschiedene bivalente Kationen (Ca^{++} , Mg^{++}), während Hüllsubstanzen organischer Art und eine geringe Salzkonzentration dem entgegenwirken (BRAKKE, 1967). Mechanische Kräfte haben wegen der geringen Größe der Virusteilchen nur einen geringen oder keinen Einfluß auf die Auflösung der Aggregate (CHANG, 1967). Der gleiche Autor glaubt, daß Ausmaß und Verteilung der Aggregate in der Lösung keinen Einfluß haben auf den Nachweis der infektiösen Viruseinheiten. Die Ergebnisse aus den eigenen Untersuchungen weisen bei allen Virusarten auf zunehmend lineare Inaktivierungen hin, je stärker die einwirkende Noxe war, z.B. beim relativ empfindlichen Aujeszky-Virus die Temperatur von 15°C . Eine solche Beobachtung bestätigen auch BERG und Mitarbeiter (1964). Der Verlauf der Inaktivierungskurven läßt auch Rückschlüsse auf die Größe der Aggregate zu. Die einzelnen Virusarten verhielten sich in den unterschiedlichen Versuchswässern hinsichtlich Inaktivierungsgang überraschend einheitlich. Dies bestärkt die Annahme, daß jede Virusart in einer ihr eigenen Aggregatgröße, mehr oder

weniger abhängig von den oben angeführten Faktoren, vorlag. Das HCC- und das Teschenvirus sind nach CHANG (1967) hauptsächlich als einzelne Viruspartikel suspendiert, ein geringer Teil nur in Aggregaten unterschiedlicher Größe. Das Aujeszky-Virus bildet viele kleine Aggregate, das Vacciniavirus viele große, während das ND-Virus praktisch überhaupt nicht aggregiert.

Bei fast allen bisher untersuchten Viren weisen die Kurven auf eine biphasische Inaktivierung hin. Sie kann ihre Ursache in der Art der Aggregation haben.

Aber auch andere Faktoren müssen berücksichtigt werden. Die Viruspopulation kann hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber einer Noxe heterogen sein. Ausserdem setzt sich der Inaktivierungsvorgang meistens aus verschiedenen Einzelprozessen zusammen. Bei der Haltbarkeit von Viren im Wasser unter natürlichen Bedingungen muß auf jeden Fall ein multifaktorielles Geschehen angenommen werden.

Die erste wesentliche Erkenntnis aus den Untersuchungen ist, daß unter natürlichen Bedingungen Viren in Trink- und Oberflächenwasser zum Teil ausgesprochen lange infektionstüchtig bleiben. Bei relativ labilen Viren (z.B. Aujeszky-Virus) sind es zumindest Tage, bei resistenteren (ND-Virus) Wochen. Sehr stabile hüllenlose Virusarten (Adeno- und Enteroviren), aber auch Pockenviren, können offensichtlich über Monate in Wässern überdauern. Anhand der Wasserstabilität ließe sich so eine Skala unter den Virusarten bzw. -gruppen erstellen.

Die weniger stabilen Virusarten sind allem Anschein nach bestimmten, im Wasser die Virusstabilität beeinflussenden Faktoren (besonders der Temperatur) mehr ausgesetzt, als die sehr resistenten. Insgesamt gesehen dürften die in diesem Rahmen speziell geprüften, natürlichen Wasserkonditionen wie Temperatur, pH-Wert, Härte und Herkunft (Wasserart) keine sehr wesentlichen Einflüsse auf die Haltbarkeit der Viren in Trink- oder Oberflächenwasser ausüben. Wesentlich für die Stabilität im Wasser ist sicher in erster Linie ihre allgemeine Tenazität, die sich aus dem Aufbau

und den chemisch-physikalischen Eigenschaften des jeweiligen Viruspartikels ableitet.

Am Einfluß der Wassertemperatur auf die Virusinaktivierung besteht prinzipiell kein Zweifel; dies ist auch aus der Literatur bekannt. Höhere Wassertemperaturen, wie sie beispielsweise in der wärmeren Jahreszeit auftreten, bewirken steilere Inaktivierungskurven. Allerdings sind diese Unterschiede im natürlichen Trinkwasserbereich geringer als vielfach angenommen wird. Nur bei den behüllten Virusarten (Aujesky-, ND-Virus) zeigt der an sich geringe Temperaturunterschied zwischen 9°C und 15°C deutlich verschiedene Ergebnisse, die aber wiederum nur bei bestimmten Wasserarten signifikant erkennbar sind. Die Höhe der Wassertemperatur ist deshalb mit großer Wahrscheinlichkeit kein Alleinfaktor, sondern Mitfaktor bei der Virusinaktivierung, wie beispielsweise auch beim Teschenvirus sichtbar ist. Dieses Virus verhielt sich in den verschiedenen Wässern unterschiedlich: Während sich bei 9°C die Form der Inaktivierungskurven ähnelt, zeigt es in den Wässern Isar und Tegernsee bei 15°C einen deutlich schnelleren Titerabfall als im Wasser München bei gleicher Temperatur. Letzteres Trinkwasser enthält 60-80% mehr Calciumionen; dies bestätigt die Ergebnisse von WALLIS und MELNICK (1962), die eine Thermostabilisierung von Enteroviren durch verschiedene Kationen beobachteten. Daß sich eine solche Stabilisierung nicht auch bei 9°C zeigt, mag daran liegen, daß dieser Temperaturwert an der unteren Grenze des von diesen Autoren gefundenen Temperaturbereichs (4°C - 50°C) liegt, in dem die Thermostabilisierung zu beobachten ist - und deshalb nicht so ausgeprägt ist. Die Versuche anderer Autoren zeigen ähnliche Ergebnisse.

Der pH-Wert des Wassers dürfte in der Natur kaum Einfluß auf die Überlebenszeit der Viren haben. Allenfalls die relativ labilen Arten zeigen unter bestimmten Bedingungen und zusammen mit anderen Faktoren eine geringe Empfindlichkeit. So kann

beispielsweise die mit einer Korrektur des pH-Wertes verbundene Änderung des Ionengleichgewichts insofern eine Rolle spielen, als sie zu einer Auflösung von Virusaggregaten führen kann. Dadurch kann die einwirkende Noxe alle Partikel angreifen und es zeigt sich ein exponentieller Kurvenverlauf mit relativ kürzerer Inaktivierungsdauer. Auch beim Teschenvirus sieht man, daß es sich um ein multifaktorielles Geschehen handelt. Das Virus zeigt keine Unterschiede in den Wässern München pH_{6,0}/7,5/8,0, während im Wasser Wahnbach die Inaktivierung schneller vonstatten geht. Hier spielt wahrscheinlich sowohl die Stabilisierung des Virus durch Kationen (Ca^{++}) als auch die geringere Aggregatgröße bei höherem pH-Wert (8,6) eine Rolle. Alle Virusarten, die in diesen Versuchen zur Anwendung kamen, gelten in dem Bereich von pH=6 bis pH=9 als stabil. Trotzdem ist nicht auszuschließen, daß diese pH-Werte, wenn sie über längere Zeit auf das Virus einwirken, nicht doch unter bestimmten Bedingungen Unterschiede in der Empfindlichkeit aufzeigen, insbesondere in den Grenzbereichen der Stabilität.

Gegenüber unterschiedlicher Wasserhärte verhielten sich die einzelnen Virusarten uneinheitlich. Aus den eigenen Versuchen sind nicht viele Aussagen möglich. Meist werden die Einflüsse der Wasserhärte erst langfristig deutlich; sie sind mit großer Wahrscheinlichkeit auf den Gehalt an Calcium- und Magnesiumionen zurückzuführen und werden auch in der Literatur beschrieben. Jedoch besteht keine einheitliche Korrelation, wie auch von GINOZA (1968) bestätigt wird. So werden beispielsweise Enteroviren durch Magnesiumchlorid MgCl_2 stabilisiert, während dies mit Magnesiumsulfat MgSO_4 nicht zu erreichen ist. Wahrscheinlich spielen hier auch gewisse Anionen eine Rolle, deren Einfluß in diesem Zusammenhang aber nicht quantitativ erfaßt werden kann. Im gesamten Faktorenkomplex scheint die Wasserhärte eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Bei der Beurteilung der Haltbarkeit von Viren je nach der ver-

wendeten W a s s e r a r t muß man berücksichtigen, daß pH-Wert, Wasserhärte und eine Reihe weiterer Faktoren gemeinsam die Ergebnisse beeinflussen. Die verschiedenen positiven und negativen Einflüsse dürften sich im wesentlichen ausgleichen, und dies umso ausgeprägter, je mehr Einzelfaktoren vorliegen. Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß sich aus den Ergebnissen nur bei den wasserlabileren Viren (Aujesky- und ND-Viren) Anhaltspunkte für deutlichere Einflüsse fanden. Bei den stabilen Viren können Einzeleinflüsse alleine die Stabilität im Wasser nicht wesentlich verändern. Eine Ausnahme bildet hier wiederum die Stabilisierung durch bestimmte Kationen, die aber erst langfristig deutlichere Ergebnisse zeigt. Vergleiche mit Literaturangaben sind nicht möglich, da bisher keine vergleichenden Untersuchungen bekannt sind.

Bei g e c h l o r t e m W a s s e r überdeckt der zugesetzte, stark viruzide Wirkstoff naturgemäß alle natürlichen Einflüsse. Die größten Virusverluste fanden sich in den ersten Minuten der Chloreinwirkung. Dies zeigte sich bei allen Virusarten und Chlorkonzentrationen und wird durch die bisher bekannte Literatur bestätigt. Über den Versuchszeitraum von zwei Stunden führte die Konzentration von 0,1mg/l Chlor - unabhängig von der Virusart - zu einem relativ einheitlichen Abfall des Virusgehalts von rund 90%. Eine gewisse Sonderstellung nahm das Vaccinia-Virus ein, das als einziges keinen deutlichen Verlust erlitt. Die Beobachtung von KELLY und SANDERSON (1958), daß im Wasser ein natürlicher Chlorverlust von 0,18mg innerhalb von zwei Stunden auftritt, kann in diesem Umfang nicht bestätigt werden, weil auch nach dieser Zeit der verbliebene Restvirusgehalt noch eine abfallende Tendenz zeigt; die Kurven zeigen allerdings eine deutliche Tendenz der Abflachung.

Bei der Anwendung von 0,5mg/l Chlor wurden die behüllten ND-Viren innerhalb von zehn Minuten zu mehr als 99,99% zerstört, während beim HCC-Virus dafür ungefähr die doppelte Zeit benötigt wurde. Einen deutlichen Rückgang des Virusgehalts zeigten

das Teschen- und Vacciniavirus, das Ausmaß betrug rund 99%. Auch hier zeigte sich am Ende der Versuchszeit eine Abnahme der Inaktivierungsrate. Für diese Erscheinung sind zwei Gründe verantwortlich zu machen: Einmal kommt es im Wasser zu einem natürlichen Chlorverlust, damit wird das Ausmaß der einwirkenden Noxe geringer. Hinzu kommt die durch die Viruspartikel und -aggregate verursachte Chlorzehrung, die für solch hohe Viruskonzentrationen nicht unterschätzt werden darf, insbesondere bei den relativ großen Pocken. Die hohe Widerstandsfähigkeit dieser Viren dürfte mit ihrem komplexen Aufbau zusammenhängen. Für die Infektiosität wichtige enzymatische Aktivitäten sind gut geschützt von Lateralkörpern und der doppelschichtigen Virus-hülle im Nukleoid gelagert.

Bisherige Arbeiten auf diesem Gebiet wurden häufig bei Temperaturen von 20-29°C durchgeführt und weisen deshalb teilweise erheblich kürzere Inaktivierungszeiten bzw. Chlorkonzentrationen aus. Solche Versuchstemperaturen erscheinen aber unrealistisch, denn selbst in der warmen Jahreszeit weisen Trinkwässer praktisch nie solche Temperaturen auf. Mit anderen Autoren, die über Versuche bei 0°C bis 6°C berichten, besteht eine gute Übereinstimmung.

Die zur Trinkwasserdesinfektion üblicherweise benützten Chlorkonzentrationen sind geeignet, eine erhebliche Reduzierung des Virusgehalts - in den meisten Fällen auch eine völlige Viruseliminierung - herbeizuführen, weil man davon ausgehen kann, daß unter natürlichen Bedingungen erheblich weniger Virusmengen vorliegen.

Tabelle 22 : Empfindlichkeit der einzelnen Virusarten

Empfindlichkeit gegenüber:	AU-Virus	ND-Virus	HCC-Virus	T-Virus	VE-Virus
Wassertemperatur	+	+	-	-	-
pH-Wert des Wassers	+	/	/	-	-
Wasserhärte	+	/	/	+	+
Wasserart	+	+	-	-	-
Chlorung	/	+++	+++	++	+

+/++/+++ Empfindlich bis stark empfindlich
 + Empfindlichkeit gering, undeutlich oder mit Einschränkungen
 - Nicht empfindlich

5. ZUSAMMENFASSUNG

In Anlehnung an die Verhältnisse, wie sie unter natürlichen Bedingungen anzutreffen sind, wurde die Haltbarkeit von Aujeszky-, Hepatitis contagiosa canis-, Newcastle Disease-, Teschen- und Vacciniaviren in Trinkwasser unter Berücksichtigung der Faktoren Temperatur, pH-Wert, Wasserhärte, Wasserart sowie der Chlorung üblicher Stärke untersucht. Die Wasserproben enthielten zwischen $10^{3,5}$ und $10^{5,5}$ infektiöse Einheiten pro ml. Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Bei Temperaturen von 9°C bzw. 15°C blieben 6 verschiedene Trink- und Oberflächenwässer über folgende Zeiten infektiös: Aujeszky-Virus: 16-50 Tage; Hepatitis contagiosa canis-Virus: über 190 Tage; Newcastle Disease-Virus: 136-208 Tage; Teschen-Virus: über 168 Tage; Vaccinia-Virus: 140-234 Tage. Die unbehüllten Virusarten verhielten sich entsprechend ihrer allgemeinen Tenazität wesentlich stabiler als die behüllten.
2. Alle Inaktivierungskurven mit Ausnahme des Newcastle-Disease Virus weisen auf eine zwei- oder mehrphasische Inaktivierung hin.
3. Die Aggregatbildung von Viren in Wasser spielt wahrscheinlich eine wichtige Rolle für die Art und Dauer der Inaktivierung.
4. Die Wassertemperatur hatte nur für die behüllten Virusarten deutlichen Einfluß auf die Inaktivierungsgeschwindigkeit.
5. Der pH-Wert, die Wasserhärte und die Wasserart scheinen ebenfalls bei den behüllten Virusarten einen gewissen Einfluß auf die Inaktivierungsgeschwindigkeit auszuüben.
6. 0,1mg/l freies Chlor im Trinkwasser inaktivierte bei allen Viren ca. 90% innerhalb von zwei Stunden. Bei 0,5mg/l freiem Chlor wurden nur die behüllten Virusarten schnell und vollständig inaktiviert.

S U M M A R Y

The resistance of Aujeszky-, Hepatitis contagiosa canis-, Newcastle Disease-, Teschen- and Vaccinia viruses in drinking water was investigated under conditions similar to natural ones, considering factors like temperature, pH-values, water hardness and origin of water as well as chlorination in concentrations usually used for drinking water. The water specimens contained $10^{3,5}$ - $10^{5,5}$ infective doses per ml. The results can be summarised as follows:

1. In water temperatures of 9°C or 15°C six different types of drinking- and surface waters remained infective during the following periods: Aujeszky virus: 16-50 days; Hepatitis contagiosa canis virus: more than 190 days; Newcastle Disease virus: 136-208 days; Teschen virus: more than 168 days; Vaccinia virus: 140-234 days. The non-enveloped viruses showed much more stability in water than enveloped species, which corresponds to their general resistance.
2. With the exception of Newcastle Disease virus the inactivation reaction was generally of a two- or more hit type of kinetics.
3. Aggregation of virus particles in water most probably plays a major role for the kind and longevity of inactivation.
4. Water temperature had a distinct effect on the rapidity of inactivation only for the enveloped viruses.
5. In addition, water hardness, pH-values, and origin of water seem to exert some effect on the rapidity of inactivation of enveloped viruses.
6. 0,1mg/l of free chlorine in drinking water inactivated all viruses used in this study up to about 90% within 2 hours. With 0,5mg/l of free chlorine a rapid and total inactivation was achieved only with enveloped viruses.

1. Alexander, I., 1974 Persönliche Mitteilungen
2. Appleyard, G., 1967 The Photosensitivity of Semliki Forest and other Viruses.
J. Gen. Virol. 1, 143-152
3. Bagdasar'jan G.A. Überleben von Entero- und Adeno- und R.M.Abijewa, 1970 viren im Wasser.
Gig. Sanit. 36, 10-14
4. Bell J.A., W.P. Rowe, Pharyngoconjunctival Fever.
J.I. Engler, R.H. J. Am. Med. Ass. 157, 1083-1092
Parrot, 1955
5. Berg G., 1965 Die Virusübertragung auf dem Wasserweg. Arch. Hyg. Bakt. 149, 310-335
6. Berg G., 1967 Transmission of Viruses by the Water Route.
Interscience Publishers, New York
7. Berg G., 1973 Removal of Viruses from Sewage, Effluents and Waters.
Bull. Wld. Hlth. Org. 49, 451-469
8. Berg G., S.L. Chang, Devitalization of Microorganisms by Iodine. Virology 22, 169-181
K.E. Harris, 1964
9. Bitton G., 1975 Adsorption of Viruses onto Surfaces in Soil and Water.
Wat. Res. 9, 473-484
10. Bitton G., R. Mitchell Effect of Colloids on the Survival of Bacteriophages in Seawater.
1974
Wat. Res. 8, 227-229

19. Carazzone M.M., G. Zitiert in: Berg G., Removal of
Vanini, 1969 Viruses from Sewage, Effluents and
 Waters, Bull. Wld. Hlth. Org. 49,
 451-469, 1973

20. Carlson G.F., F.E. Virus inactivation on Clay Particles
Woodard, D.F. in Natural Waters.
Wentworth, O.J. Sproul J. Wat. Pollut. Control Fed. 40,
1968 89-106

21. Carlson S., 1965 Bedeutung, Aufgaben und Ziel der
 Virusforschung in der Wasserhygiene.
 Gas- u. Wass.Fach 106, 325-329

22. Carlson S., 1970 Das Redoxmilieu als Faktor der Keim-
 abtötung. In: Die Desinfektion von
 Trinkwasser.Schr.Reihe Ver. Wass.-
 Boden- u. Lufthyg. 31, 21-39

23. Carlson S., Th. Kempf, Eindringtiefe von Phagen und Viren in
K. Kortum, 1972 verschiedenen Bodenarten unter dem
 Einfluß anionischer Tenside bei der
 Grundwasseranreicherung.
 Zent.bl. Bakt., I.Abt, Ref. 230, 73

24. Cazacu E., Investigatii epidemiologice si
C. Busuioc, A. serologice intr-un focar de adeno-
Stoicescu, V. Ionescu, viroze de bazin de inot.
M. Pompilian, N. Pediatria Buc. 16, 319-323
Mihăilescu, 1967

25. Chang S.L., 1958 The Use of active Iodine as a
 Water Disinfectant.
 J. Am. pharm. Ass. Sci.Ed. 47, 417-423

26. Chang S.L., R.E. Removal of Coxsackie and Bacterial
Stevenson, A.R. Bryant, Viruses in water by flocculation.
R.L. Woodward, P.W. I. Removal of Coxsackie and
Kabler, 1958 Bacterial Viruses in water of known
chemical content by flocculation with
Aluminium Sulfate or Ferric Chloride
under various testing conditions.
Am. J. Publ. Hlth. 48, 51,
27. Chang S.L., 1967 Statistics of the infective units of
animal viruses. In:
Berg G., Transmission of Viruses by
the Water Route, S.219-234
Interscience Publishers, New York
28. Chaudhuri M., R.S. Removal of Viruses from Water by
Engelbrecht, 1970 chemical Coagulation and Flocculation.
J. Am. Wat. Wks. Ass. 62, 9, 563
29. Clarke N.A., P.W. The Inactivation of purified
Kabler, 1954 Coxsackie Virus in Water by Chlorine.
Am. J. Hyg. 59, 119
30. Clarke N.A., R.E. The Inactivation of purified type 3
Stevenson, 1956 Adenovirus in Water by Chlorine.
Am. J. Hyg. 64, 314-319
31. Clarke N.A., R.E. Survival of Coxsackie Virus in Water
Stevenson, P.W. and Sewage.
Kabler, 1956 J. Am. Wat. Wks. Ass. 48, 677-682
32. Clarke N.A., S.L. Enteric Viruses in Water.
Chang, 1959 J. Am. Wat. Wks. Ass. 51, 1299-1317

33. Clarke N.A., G. Berg, Human Enteric Viruses in Water -
P.W. Kabler, S.L. Source, Survival and Removability.
Chang, 1964 Proc. Int. Conf. Water Pollution
Research 2, 523
Pergamon Press, London
34. Cliver D.O., J.E. Proteolytic and microbial inactivation
Herrmann, 1972 of enteroviruses.
Wat. Res. 6, 797-805
35. Coin L., C. Hannoun, Inactivation par l'ozone du virus de la
C. Gomella, 1964 poliomyélite présent dans les eaux.
Presse med. 72, 37, 2153-2156
36. Coin L., C. Gomella Inactivation par l'ozone du virus de la
1967 poliomyélite présent dans les eaux.
Presse med. 75, 1883
37. Coin L., M.L. Modern Microbiological and Virological
Menetrier, J. Aspects of Water Pollution.
Labonde, M.C. Adv. Wat. Pollut. Res. 1,
Hannoun, 1965
38. Coin L., 1967 In: Berg G., Transmission of Viruses
by the Water Route, S. 367
Interscience Publishers, New York
39. Cookson Jr. J.T. Adsorption of Viruses on activated
1967 Carbon; Adsorption of E.coli
Bacteriophage T4 on activated Carbon as
a diffusion-limited process.
Envir. Sci. Technolog. 1, 157
40. Cookson Jr. J.T. Mechanism of virus adsorption on
1969 activated carbon.
J. Am. Wat. Wks. Ass. 61, 52-56

41. Craun G.F., L.J. McCabe, 1973 Review of the causes of waterborne-disease outbreaks.
J. Am. Wat. Wks. Ass. 65, 74-84
42. Crovari P., S. de Flora, A. Vannucci G. Badolati, 1974 The virological monitoring of water-II. Sea water.
Boll.Ist. sieroter. milan. 53, 4
43. Daubner I., 1972 Mikrobiologie des Wassers.
BLV München
44. Dickov,J., 1967 Eine wasserbedingte Virus-Hepatitis Epidemie.
Epidem. Mikrobiol. Infekc. Boll. 4, 134-140
45. Dozanska,W., H. Dobrowolska, 1968 Entkaimung enterovirenhaltiger Abwässer. II. Inaktivierung von Poliomyelitis-Viren durch gebundenes freies Chlor.
Rozn. panst. Zakl. Hig.19, 507-515
46. Drewry,W.A., R. Eliassen, 1968 Virus Movement in Groundwater.
J. Wat. Pollut. Control Fed. 40, 257-271
47. Fair, G.M., J.C. Morris, 1948 The behavior of chlorine as a water disinfectant.
J. Am. Wat. Wks. Ass. 40, 1051
48. Foliguet, J.M., L. Schwartzbrod, O.G. Gaudin, 1966 La pollution virale des eaux usées de surface et d'alimentation.
Bull. Wld. Hlth. Org. 35, 737-749

49. Foliguët, J.M.,
F. Doncoeur, 1974
Elimination des virus au cours du
traitement de l'eau prechloration
au "Break-Point".
Wat. Res. 8, 651-657
50. Foy, H.M., M.K.
Cooney, J.B. Hatlen
1968
Adenovirus Type 3 Epidemic Associated
with intermittend chlorination of a
swimming-pool.
Archs. Envir. Hlth. 17, 795-802
51. Garibaldi, R.A.,
G.D. Murphy,
B.T. Wood, 1972
Infectious Hepatitis Outbreak Associated
with Cafe Water.
HSMHA Hlth. Reports 87, 2, 164-171
52. Gavan, D.T.,
J.W. Nutt, 1970
An epidemic of waterborne infectious
hepatitis in France.
Archs. Environ. Hlth. 20, 523-532
53. Gerba, C.P.,
G.E. Schaiberger
1975
Aggregation as a factor in loss of
viral titer in seawater.
Wat. Res. 9, 567-571
54. Gilcreas, F.W.,
S.M. Kelly, 1955
Relationship of Coliform-Organism Test
to Enteric Virus Pollution.
J. Am. Wat. Wks. Ass. 47, 683
55. Ginoza, W., 1968
Inactivation of Viruses by Ionizing
Radiation and by Heat. In:
Maramorosch K., H. Koprowski: Methods
in Virology IV, S.139. Academic Press,
New York.
56. Grigoreva, L.V.
1967
Wirkung von Silber auf Coxsackie-
Viren und Bakteriophagen im Wasser.
Gig. Naselennykh Mest. 1967, 62-66

57. Grinstein, S., J.L. Melnick, C. Wallis, 1970 Virus Isolations from Sewage and from a Stream receiving Effluents of Sewage Treatment Plants.
Bull. Wld. Hlth. Org. 42, 291-296
58. Green, D.M., 1968 Waterborne-outbreak of viral gastro-enteritis and Sonne dysenterie.
J. Hyg., Camb. 66, 383-392
59. Gundersen, K., A. Brandberg, S. Magnusson, E. Lycke, 1967 Characterization of a marine bacterium associated with virus inactivating capacity.
Acta path. microbiol. scand. 71, 281-286
60. Hässelbarth, U., 1973 Keimabtötungsgeschwindigkeit von Ozon und Halogen.
Referat in: Gas- u. Wass. Fach- Wasser/ Abwasser 114, 291
61. Häufele, A., H.v. Sprockhoff, 1973 Ozon als Desinfektionsmittel gegen vegetative Bakterien, Bazillensporen, Pilze und Viren im Wasser.
Zent.bl. Bakt., I.Abt.Orig. B175, 53-70
62. Harris, W.C., 1972 Ozone disinfection.
J. Am. Wat. Wks. Ass. 64, 182-183
63. Hawley, B.H., P.D. Morin, M.E. Geraghty, J. Tomkow, C.A. Phillips, 1973 Epidemic at a boys' summer camp.
J. Am. Med. Ass. 226, 33-36

64. Hechmat, A., 1972 Zur Frage der Notversorgung mit
Trinkwasser mittels Seitzfilter.
Zent.bl. Bakt., I. Abt. Orig. B155,
535-540
65. Helcl, J., A waterborne epidemic of infectious
K. Novak, V. Janout, hepatitis at Usti nad Labem.
1969 J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immun.
13, 201-211
66. Hennemann, T., 1968 Experimentelle Untersuchungen über
die Tenazität von Adenoviren des
Schweines.
Vet. Med. Diss. München
67. Herrmann, J.E., Degradation of coxsackievirus type A9
D.O. Cliver, 1973 by proteolytic enzymes.
Infect. Immunity 2, 513-517
68. Herrmann, J.E., Persistence of Enteroviruses in Lake
K.D. Kostenbader Water.
jr., D.O. Cliver, Appl. Microbiol. 28, 895-896
1974
69. Hettche, H.O., 1953 Oberflächenwasser als Trinkwasser.
Zent.bl. Bakt., I. Abt. Orig. 160, 6
70. Hettche, H.O., Epidemiologie und Prophylaxe der
H.W. Schulz- Poliomyelitis im Hinblick auf die
Ehlbeck, 1953 Rolle des Wassers bei der Übertragung.
Arch. Hyg. Bakt. 137, 440-449
71. Hill jr., W.F., Survival of Poliovirus in Flowing
F.E. Hambled, E.W. Turbid Seawater treated with
Akin, 1967 Ultraviolet Light.
Appl. Microbiol. 15, 533-536

72. Hill jr., W.F.
1969/1970/1971
zitiert in: Berg G., Removal of viruses from sewage, effluents and waters. Bull. Wld. Hlth. Org. 49, 451-460, 1973
73. Höll, K., 1970
Wasser.
W. de Gruyter, Berlin
74. Horst, H., 1974
Anreicherung von Hepatitis-B-Antigen aus Wasser und Abwasser mittels Immuno-adsorption im kontinuierlichen Durchflußverfahren. Zent.bl. Bakt., I. Abt. Orig. 8158, 578-582
75. Ioli, A., S.M.
Abena, 1973
Osservazione sul periodo di persistenza dell' antigene Australia nell' acqua. Boll. Ist. sieroter. milan. 52, 103-105
76. Jordan, F.T.W.,
T.J. Nassar, 1971
The influence of copper on the survival of Infectious Bronchitis Virus in water. Vet. Rec. 89, 609-610
77. Kärber, G., 1931
Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. Arch. exp. Path. Pharmac. 162, 480
78. Katzenelson, E.,
H. Schechter,
N. Biedermann,
Y. Rotem, H.I.
Shuval, 1973
Ozone inactivation of waterborne viruses. Proc. of the 4th Scientific Conference of the Israel Ecological Soc.
79. Kelly, S.M.,
W.W. Sanderson,
1958
The effect of chlorine in water on enteric viruses. Am. J. Publ. Hlth. 48, 1323-1334

80. Kelly, S.M.,
W.W. Sanderson,
1960 The effect of chlorine in water on enteric viruses. II. The effect of combined chlorine on Poliomyelitis and Coxsackievirus.
Am. J. Publ. Hlth. 50, 1-14
81. Kessel, J.F., 1943 zitiert in: Carlson S., Bedeutung, Aufgaben und Ziel der Virusforschung in der Wasserhygiene. Gas- u. Wass.Fach 106, 325-329, 1965
82. Klebanoff, S.J.,
M.E. Selding, 1974 Virucidal activity of H_2O_2 -generating Bacteria: Requirement for Peroxidase and a Halide.
J. infect. Dis. 129, 3, 345-348
83. Knorr, M., K. Klöhr,
1956 Das Schicksal des Virus im Flußwasser und im Boden.
Arch. Hyg. Bakt. 140, 181
84. Koch, G., 1962 Über die Hitzeinaktivierung von Polioviren und isolierter Poliovirus-Nukleinsäure.
Zent.bl. Bakt., I.Abt.Orig. 184, 165
85. Köhler, R., 1975 Technologie und Anwendung der Enspannungsflotation in der Abwasserreinigung.
Wass. Luft Betr. 2/3, 1975
86. Kraus, P., P.Weber,
1958 Untersuchungen über die Haltbarkeit von Krankheitserregern in Trink- und Oberflächenwasser.
Zent.bl. Bakt., I.Abt. Orig. 171, 509
87. Krusé, C.W., V.P.
Olivieri, K.Kawata
1971 The inhancement of viral inactivation by halogens.
Wat. Sewage Wks. 118, 187

88. Lamb, G.A., T.D.Y. Isolations of enteric viruses from
Chin, L.E. Scarce, sewage and river water in a
1964 metropolitan area.
Am. J. Hyg. 80, 320-327
89. Liebscher, S., 1970 Enteroviren im Schwimmbadwasser.
Z.ges.Hyg. 16, 1-6
90. Liess, B., 1974 Virusinaktivierung mit chemischen
Mitteln.
Publikation T. Goldschmidt 28, 36-40
91. Liu, D.C., H.R. Viral Pollution and Self-Cleansing
Seraichekas, Mechanism of hard Clams. In:
B.L. Murphy, 1967 Berg, G., Transmission of viruses by
the water-route, S.419-438
Interscience Publishers, New York
92. Lovtsevich, E.L., Certain Aspects of the Process of
1973 Enterovirus Inactivation with Chlorine.
Gig. San. 38, 10, 11-15
93. Lund, E., E. Lycke The effect of oxydation and reduction
1961 on the infectivity of poliomyelitis
virus.
Arch. ges. Virusforsch. 11, 100
94. Lund, E., 1961 Inactivation of poliomyelitisvirus
by chlorination at different oxydation
potentials.
Arch. ges. Virusforsch. 11, 330
95. Lund, E., 1963 Effect of pH on the oxydative
inactivation of poliovirus.
Arch. ges. Virusforsch. 12, 632

96. Lund, E., 1963 The significance of oxydation in chemical inactivation of poliovirus. Arch. ges. Virusforsch. 12, 648
97. Lund, E., 1963 Oxydative inactivation of poliovirus at different temperatures. Arch. ges. Virusforsch. 13, 375
98. Lund, E., 1963 The rate of oxydative inactivation of poliovirus and its dependence on the concentration of the reactants. Arch. ges. Virusforsch. 13, 395
99. Lund, E., 1966 Oxydative inactivation of adenovirus. Arch. ges. Virusforsch. 19, 32
100. Lund, E., 1970 Die Inaktivierung der Enteroviren. In: Die Desinfektion von Trinkwasser, Schriftenreihe d. Ver, f. Wasser-/Boden-/Lufthygiene, Bd. 31.
101. Mack, W.N.
Yue-Shoung Lu,
D.B. Coohon, 1972 Isolation of Poliomyelitis virus from a contaminated well. Hlth. Servs. Reports 87, 271-274
102. Magnusson, S.,
K. Gundersen,
A. Brandberg,
E. Lycke, 1967 Marine bacteria and their possible relationship to the virus inactivating capacity of seawater. Acta path. microbiol. scand. 71, 274-280
103. Majumdar, S.B.,
W.H. Ceckler,
O.J. Sproul, 1973 Inactivation of Poliovirus in water by ozonation. J. Wat. Pollut. Control Fed. 45, 2433-2443

104. Malherbe, H.H.,
M. Strickland-
Cholmley, 1967 Survival of viruses in the presence
of algae. In:
Berg G., Transmission of viruses by the
water route, S.449-470
Interscience Publishers, New York
105. Manwaring, J.F.,
M. Chaudhuri,
R.S. Engelbrecht,
1971 Removal of viruses by coagulation and
flocculation.
J. Am. Wat. Wks. Ass. 63, 298
106. Matossian, A.M.,
G.A. Garabedian,
1967 Virucidal action of sea water.
Am. J. Epid. 85, 1-8
107. Mayr, A., 1974 Persönliche Mitteilungen.
108. McLean, D.M., 1967 Transmission of viral infections by
recreational water. In:
Berg G., Transmission of viruses by
the water route, S. 25-36
Interscience Publishers, New York
109. McLimans, W.F.,
1947 The inactivation of equine encephalitis
virus by mechanical agitation.
J. Immun. 56, 385-391
110. Merson, M.H.,
W.H. Barker jr.,
G.F. Craun,
L.J. McCabe, 1974 Outbreaks of waterborne diseases in the
United States 1971-1972.
J. infect. Dis. 129, 614-615
111. Metcalf, T.G.
W.C. Stiles, 1967 Survival of enteric viruses in
estuary waters and shellfish. In:
Berg.G., Transmission of viruses by
the water route, S. 439-448
Interscience Publishers, New York

112. Metcalf, T.G.,
W.C. Stiles, 1968 Enteroviruses within an estuarine
environment.
Am. J. Epid. 88, 379-391
113. Metha, N.R.,
P.T. Acharya, 1969 Study of an outbreak of infective
hepatitis in the hospital staff
quarters, Baroda. Part 1:
Epidemiological aspects.
Indian J. med. Res. 57, 8, 1437-1448
114. Mitchell, R.,
H.W. Jannasch,
1969 Processes controlling virus inactivation
in sea water.
Envir. Sci. Technol. 3, 10, 941-943
115. Mötsch H., A. SÜB,
1973 Eine Versuchs-Bestrahlungsanlage zur
Hygienisierung von Klärschlamm.
Abwassertechnik 24, 6, 2-5
116. Moori, B.E.,
B.P. Sagik,
J.F. Malina jr.,
1975 Viral association with suspended solids.
Wat. Res. 9, 197-203
117. Morris, C.J., 1971 Chlorination and disinfection.
J. Am. Wat. Wks. Ass. 63, 769-774
118. Morse, L., J.A.
Bryan, J.P. Hurley,
J.F. Murphy, Th.F.
O'Brien, W.E.C.
Wacker, 1972 The Holy Cross College Football Team
Hepatitis Outbreak.
J. Am. med. Ass. 219, 706-708
119. Mosley, J.W., 1970 Transmission of viral diseases by
drinking water. In:
Berg G., Transmission of viruses by
the water route, S. 5-24
Interscience Publishers, New York

120. Müller, G., 1974 Die Desinfektion von Trinkwasser durch UV-Strahlung.
Veröffentlichung der Hanau-Quarz-
lampen GmbH
121. Neefe, J.R.,
J. Stokes jr., 1945 Epidemic of infectious hepatitis
apparently due to waterborne agent:
Epidemiology observations and
transmission experiments on human
volunteers.
J. Am. med. Ass. 28, 1043-1075
122. Neefe, J.R., 1947 Inactivation of the virus of infectious
hepatitis in water.
Am. J. Public Hlth. 37, 365
123. Newman, C.R.,
R.B.F. Smith, .
1965 An outbreak of meningitis associated
with ECHO virus type 9.
J. clin. Path. 18, 20-22
124. Nitzkin, J.L.,
M.H. Henry, 1971 Infectious hepatitis in Logan County,
Kentucky.
J. Kentucky Medical Ass. 69, 349-353
125. Ormsby, H.L.,
W.S. Aitchison,
1955 The role of the swimming pool in the
transmission of pharyngeal-conjunctival
fever.
Can. med. Ass. J. 73, 864-866
126. Oza, P.P.,
M. Chaudhuri, 1975 Removal of viruses from water by
sorption on coal.
Wat. Res. 9, 707-712
127. Palfi, A., 1972/3 Virusbelastung von Oberflächenwasser
in Ungarn.
Zent.bl. Bakt., I. Abt. Ref. 230, 386

128. Palin, A.T., 1950 Chemical aspects of chlorination.
J. Instn. Wat. Engrs. 4, 565
129. Petrilli, F.L., The virological monitoring of water.
P. Crovari, I. Drinking water.
S. de Flora, A. Boll. Ist. sieroter. milan. 53, 3
Vannucci, 1974
130. Plotkin, S.A., Minimal infective doses of viruses
M. Katz, 1967 for men by the oral route. In:
Berg G., Transmission of viruses by
the water route, S. 151-166
Interscience Publishers, New York
131. Poynter, S.F., 1968 The problem of viruses in water.
Wat Treat. Exam. (Brit.) 17, 187
132. Prier, J.E., Significance of water in natural
R. Riley, 1967 animal virus transmission. In:
Berg G., Transmission of viruses by
the water route, S. 287-300
Interscience Publishers, New York
133. Primavesi, C.A., Virologische Untersuchungen von Ober-
1966 flächengewässern und ihre Ergebnisse.
Arch. Hyg. Bakt. 150, 196
134. Primavesi, C.A., Die Viruseliminierung in Oberflächen-
1970 wasser durch Flockung und Chlorung.
Gesundheitsingenieur 9, 266-268
135. Rennie, T.F., 1970 Infectious Hepatitis-Report of an
outbreak , apparently water-borne,
in an institution.
Med. J. of Australia 2, 135-136

136. Rhodes, A.J., Prolonged survival of human
E.M. Clark, D.S. poliomyelitis virus in experimentally
Knowles, A.M. infected river water.
Goodfellow, W.L. Canad. J. Publ. Hlth. 41, 146-149
Donohue, 1950
137. Rjabčenko, V.A., zitiert in : Berg G., Removal of
E.L. Lovcević, viruses from sewage, effluents and
1965 waters. Bull. Wld. Hlth. Org. 49, 451
138. Robeck, G.G., Effectiveness of water treatment
N.A. Clarke, processes in virus removal.
K. Dostal, 1962 J. Am. Wat. Wks. Ass. 54, 1275
139. Rubinstein, S.H., Virus in metropolitan waters:
J. Fenters, Concentration by polyelectrolytes,
H. Orbach, freeze concentration and ultrafiltration.
N. Shuber, J. Reed, J. Am. Wat. Wks. Ass. 65, 200-202
E. Molloy, 1973
140. Ruschi, A., Ricerche sulla inattivazione di
H. Bendinelli. 1966 enterovirus nell'acqua di mare.
Boll. Ist. sieroter. milan. 45, 525-532
141. Ruschi, A., Ricerche sulla presenza e sul
G. Spaziante, 1972 significato di Adenovirus in
materiali vari.
Boll. Ist. sieroter. milan. 51, 249-256
142. Ruys, Ch., 1957 Enkele hygienische Aspecten van de
Waterverontreiniging.
Water-Bodem-Lucht 47, 4, 82
143. Scarpino, P.V., A comparative study of the inactivation
G. Berg, L.S. Chang, of viruses in water by chlorine.
D. Dahling, M.Lucas Wat. Res. 6, 959-965
1972

144. Schaffernoth, T.J., zitiert in: Sproul O.J., Virus
1970 inactivation by water treatment.
J. Am. Wat. Wks. Ass. 64, 31-35, 1973
145. Schenk, E., 1965 Zur Frage der Resistenz des
Newcastle Disease Virus natürlichen
Einflüssen gegenüber.
Vet. Med. Diss. Berlin
146. Shelton, P.S., Tests of coagulants for the reduction
W.A. Drewry, 1973 of viruses, turbidity and chemical
oxygen demand.
J. Am. Wat. Wks. Ass. 65, 10, 627-635
147. Shah, P.C., Relative chlorine resistance of
J. McCamish, 1972 Poliovirus I and Coliphages f2 and T2
in water.
Appl. Microbiol. 24, 4, 658-659
148. Sharp, D.G., Nature of surviving plaque-forming
R. Floyd, J.D. unit of Reovirus in water containing
Johnson, 1975 Appl. Microbiol. 29, 1, 94-101
149. Šimkova, A., Isolations of Coxsackie viruses
Z. Wallnerova, from Danube river water.
1973 Acta virol. (Prag) 17, 363
150. Šimkova, A., Survival of small amounts of
Z. Wallnerova Coxsackie A4 virus in Danube river
1973 water under laboratory conditions.
Acta virol. (Prag) 17, 505-506
151. Spearman, C., 1908 zitiert nach: Kärber G., Beitrag zur
kollektiven Behandlung pharmakolo-
gischer Reihenversuche.
Arch. exp. Path. Pharmac. 162, 480

152. Sprockhoff, H.V., H. Waitz, 1965 Untersuchungen über die Filtration von bakterien- und virushaltigem Wasser mit Seitz-Entkeimungsschichten. Zent.bl.Vet. Med. Reihe B, 12, 3, 231-240
153. Sproul, O.J., 1972 Virus inactivation by water treatment. J. Am. Wat. Wks. Ass. 64, 31-35
153. Stäheli, T., 1973 Untersuchungen über die Desinfektions-Langzeitwirkung in einem mit Ozon aufbereiteten Badewasser eines Hallenschwimmbades. Schweiz. Z. Gesundheitstechnik 7, 201
154. Stellmacher, W., 1974 Desinfektion. VEB G. Fischer Verlag, Jena
155. Stuart, H.A., 1966 Kurzes Lehrbuch der Physik. Springer Verlag Berlin
156. Suckov, B.P., 1964 zitiert in: Berg G., Removal of viruses from sewage, effluents and waters. Bull. Wld. Hlth. Org. 49, 451-460
157. Sullivan, R., R.C. Fassolitis, E.P. Larcin, R.B. Reed jr., J.T. Peeler, 1971 Inactivation of thirty viruses by gamma-radiation. Appl. Microbiol. 22, 61-65
158. Taylor, A., G.F. Craun, G.A. Faich, L.J. McCabe, E.J. Gangarosa, 1972 Outbreaks of waterborne diseases in the United States 1961-1970. J. Infect. Diseases 125, 329-331

159. Thayer, S.E.,
O.J. Sproul, 1966
Virus inactivation in water-softening
precipitation processes.
J. Am. Wat. Wks. Ass. 58, 8, 1063
160. Thorup, R.T.,
F.P. Nixon, 1970
Virus removal by coagulation with
polyelectrolytes.
J. Am. Wat. Wks. Ass. 62, 2, 97
161. Thraenhart, O.,
E. Kuwert, 1975
Vergleichende Untersuchungen über
die Wirkung von Chlor und Ozon auf
Polioviren bei der Trinkwasseraufberei-
tung der Stadt Essen.
Zent.bl. Bakt., I. Abt. Orig. 8160,
305-341
162. Trachtmann, M.M.,
1949/50
zitiert in: Carlson S., Das Redoxmilieu
als Faktor der Keimabtötung, in:
Die Desinfektion von Trinkwasser.
Schr. Reihe Ver. Wasser-, Boden- u.
Lufthyg. 31, 21-39
163. Trouwborst, T.,
S. Kuyper, J.C.
de Jong, A.D.
Plantinga, 1974
Inactivation of some bacterial and
animal viruses by exposure to liquid-
air interfaces.
J. Gen. Virol. 24, 155-165
164. Varma, M.M.,
B.A. Cristian,
D.W. McKinstry,
1974
Inactivation of Sabin oral poliomyelitis
type 1 virus.
J. Wat. Pollut. Control Fed. 46, 5
987-992
165. Veckenstedt, A.,
1956
Über die Haltbarkeit des MKS-Virus
im Plankton.
Arch. exp. Vet. Med. 10, 517-534

166. Vidor, T., 1973 Vergleichende Untersuchungen über die Inaktivierung von Reovirus, Sero-
typ 1, unter Erhalt der immunisierenden
Eigenschaften.
Vet. Med. Diss. München
167. Vogel, R., 1971 Wasserreinigung durch Flockung.
Textil-Praxis 3, 188-191
168. Wallhäuser, K.H., Sterilisation-Desinfektion-Konser-
H. Schmidt, 1967 vierung-Chemotherapie.
G. Thieme Verlag Stuttgart
169. Wallis, C., Cationic stabilization - A new property
J.L. Melnick, of enteroviruses.
1962 Virology 16, 504-506
170. Wasielewski, E.v., Modellversuche zur Überlebensdauer
S. Carlson, pathogener Viren im Rheinwasser.
K.H. Husmann, Arch. Hyg. Bakt. 145, 184-189
G. Christoforidis, 1961
171. Weidenkopf, S.J. Inactivation of type 1 poliomyelitis
1958 virus with chlorine.
Virology 5, 56
172. Welke, G., 1973 Untersuchungen zur Inaktivierung von
ECHO-Virus 6,11,30 und 33 in Wasser-
proben.
Z. Hyg. 19, 353-355
173. Wentworth, D.F., Poliovirus inactivation in water-
R.T. Thorup, 1968 softening precipitation processes.
J. Am. Wat. Wks. Ass. 60, 8, 939-946

174. Whatley, T.R., G.W. Comstock, J. Garber, F.S. Sanchez, 1968 A waterborne outbreak of infectious hepatitis in a small Maryland town. Am. J. Epidemiol. 87, 138-147
175. Witt, G., 1964 Virologische Untersuchungen von Badewässern im Anschluß an eine Polio-myelitis-Schluckimpfung. Arch. Hyg. Bakt. 148, 188-193
176. Wolf, H.W., 1971 Biological aspects of water. J. Am. Wat. Wks. Ass. 63, 181-185
177. Won, W.D., H. Ross, 1973 Persistence of virus and bacteria in seawater. J. env. Engr. Div. 99, 205-211
178. Young, R.H.F., N.C. Burbank, jr., 1973 Virus removal in Hawaiian soils. J. Am. Wat. Wks. Ass. 65, 598-604
179. Zejdl, M., M. Litov, J. Halcl, O. Lhotsky, 1965 Infectious hepatitis epidemic spread by water. J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol. 9, 374-386

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr möchte ich an dieser Stelle herzlich für die Überlassung des Themas und für seine freundliche Hilfe danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Mahnel für viele wertvolle Hinweise und jederzeit gerne gewährten Rat.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Dr. I. Alexander von den Stadtwerken München, Gruppe Wasserwerke, die mir in Fragen der Wasserchemie hilfreich zur Seite stand, sowie bei den Stadtwerken Wiesbaden und München und dem Wahnachtalsperrenverband für die Überlassung von Wasserproben und Wasseranalysen.

LEBENS LAUF

Am 18. Juni 1948 wurde ich, Klaus Ottis, als zweites Kind des Arztes Dr. med. Ludwig Ottis und seiner Ehefrau Elisabeth, geborene Hübschmann, in München geboren.

Von 1954 bis 1959 besuchte ich die Volksschule in München und wechselte dann in das Erasmus-Grasser-Gymnasium in München über, wo ich 1968 mit dem Abitur abschloß.

Von 1968 bis 1974 studierte ich an der Universität München, Fachbereich Tiermedizin. Das Staatsexamen legte ich am 19.3.74 ab, die Bestallung als Tierarzt erhielt ich am 23.4.74 .

Mit der vorliegenden Arbeit habe ich im April 1974 begonnen.

